



UNIVERSIDAD DE PANAMÁ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE BIOLOGÍA

TESIS DE LICENCIATURA

Evaluación cuantitativa de los indicadores de calidad microbiológica en muestras de queso blanco, blando, con sal de tipo artesanal e industrial comercializados en la ciudad de Panamá mediante el recuento en placas Petrifilm 3M.

Presentado por:

Alexander A. Alvarado B. 8-928-184

Yodavis B. Rodríguez R. 3-742-516

Trabajo de graduación presentado como requisito para optar por el título de Licenciatura en Biología, con orientación en Microbiología y Parasitología.

Panamá, República de Panamá

2024



TRIBUNAL EXAMINADOR

Título:

Evaluación cuantitativa de los indicadores de calidad microbiológica en muestras de queso blanco, blando, con sal de tipo artesanal e industrial comercializados en la ciudad de Panamá mediante el recuento en placas Petrifilm 3M.

Por:

Alexander Alvarado: _____

8-928-184

Yodavis Rodríguez: _____

3-742-516

Trabajo de graduación presentado como requisito para optar por el título de Licenciatura en Biología, con orientación en Microbiología y Parasitología

M. Sc. Prof. Ariadna Bethancourt: _____

M. Sc. Prof. Rita Bethancourt: _____

Dr. Enrique Medianero: _____

COMITÉ ASESOR

PROFESORA: M. Sc. ARIADNA BETHANCOURT

ASESOR PRINCIPAL

CAMPUS CENTRAL, UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE BIOLOGÍA. DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA.

PROFESORA: M. Sc. RITA BETHANCOURT

Co-ASESOR

CAMPUS CENTRAL, UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE BIOLOGÍA. DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y
PARASITOLOGÍA.

PROFESOR: Dr. ENRIQUE MEDIANERO.

Co-ASESOR

CAMPUS CENTRAL, UNIVERSIDAD DE PANAMÁ

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE BIOLOGÍA. DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA AMBIENTAL

DEDICATORIA

Dedico este trabajo, en primer lugar, a Dios, por el regalo de la vida y por la fortaleza que me ha dado en cada paso de este camino. Por brindarme la oportunidad de llegar hasta aquí.

Para mi familia, con especial amor a mis padres, Evangelina Barrera y Alex Alvarado, por el apoyo, proporcionarme las condiciones necesarias para seguir cada día en esta carrera universitaria y por su motivación cada día para seguir siempre adelante. A mis hermanos, por sus alegrías y animo constante.

Para mis abuelos, en especial a mi abuela Angelina Barria que con su apoyo incondicional ha sido una presencia constante en mi vida.

Para mi tía Giniva Alvarado por su orientación, motivación y apoyo siempre presente que me han impulsado a seguir adelante.

A mis compañeros de estudios, con quienes compartí aprendizajes y desafíos, y de manera especial a mi amiga y compañera de tesis Yodavis Rodríguez, agradezco la dicha de haber compartido este viaje contigo, lleno de momentos valiosos y el honor por haber llegados juntos hasta aquí. Gracias por ser más que una compañera, por ser un pilar, por tu comprensión, paciencia, esfuerzo y apoyo incondicional en esta trayectoria.

Alexander A. Alvarado B.

DEDICATORIA

Primero dedico y agradezco a Dios por darme la fortaleza, la sabiduría, las oportunidades necesarias para llegar hasta aquí.

A mi familia, quienes han sido mi mayor fuente de inspiración y apoyo. A mi madre, por su amor incondicional, por enseñarme el valor de la perseverancia y por creer en mí, incluso en los momentos en que dudaba de mis propias capacidades.

A mis abuelos, por su apoyo constante y su paciencia, y por recordarme siempre la importancia de mantenerme firme y enfocada.

A mis profesores y asesores, quienes con su paciencia, conocimiento y dedicación han sido pilares fundamentales en mi formación académica y personal, su orientación me ha permitido superar desafíos y profundizar en mi aprendizaje, y cada consejo brindado ha dejado una huella imborrable en mí.

Y, por último, a mi compañero y amigo de tesis, gracias por tu compromiso, esfuerzo y compañerismo en este proceso. Juntos hemos sorteado obstáculos, hemos aprendido, crecido, y hemos logrado completar este proyecto que tanto significa para nosotros. Ha sido un honor compartir esta etapa contigo. A todos, gracias. Esta tesis es el resultado del esfuerzo conjunto, de cada palabra de aliento, y de cada enseñanza recibida a lo largo de esta carrera.

Yodavis B. Rodríguez R.

AGRADECIMIENTO

Queremos, en primer lugar, agradecer a Dios por permitirnos llegar a este momento y ser nuestra fuerza y guía en cada paso de este camino.

Agradecemos a nuestras familias, por su comprensión, amor incondicional y constante apoyo, que fueron nuestra inspiración y motivación para seguir adelante.

Expresamos también nuestra gratitud a todos nuestros profesores en especial a nuestros asesores, la profesora Ariadna Bethancourt, la profesora Rita Bethancourt y el profesor Enrique Medianero, quienes, con su guía, compromiso y paciencia, nos transmitieron conocimientos valiosos y nos dejaron enseñanzas para nuestro desarrollo académico.

Agradecemos profundamente a todas las personas que, de una manera u otra, hicieron posible este logro con su apoyo y generosidad. Expresamos nuestra gratitud al licenciado y representante de ventas Luis Mendoza por su asesoría a la compra de las placas Petrifilm, así como por la charla ofrecida sobre el uso correcto de las placas Petrifilm (3M). También agradecemos a Maritza Ramos y Kathleen Hernández, quienes nos ofrecieron y ayudaron en el área de pesaje y preparación de muestras y medios, así como la facilitación del uso de la autoclave para esterilizar los materiales y medios de cultivos.

A nuestros compañeros de clases por las experiencias compartidas y aprendizaje mutuo en cada proceso y el esfuerzo compartido. Gracias por el compañerismo que enriquecieron este camino educativo.

Finalmente, queremos reconocer a la Universidad de Panamá por proveernos los recursos y el espacio en los laboratorios para realizar este trabajo de tesis, y a su equipo administrativo por facilitarnos el acceso a los equipos de laboratorio necesarios para nuestro trabajo.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	I
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTO	III
ÍNDICE GENERAL	IV
ÍNDICE DE CUADROS	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	X
ÍNDICE DE ANEXOS	XIII
RESUMEN	XIV
ABSTRACT	XV
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	4
1.1 Objetivos generales	4
1.2 Objetivos específicos	4
HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO I	6
MARCO TEÓRICO	6
1. Revisión bibliográfica	7
1.1 Antecedentes nacionales	7
1.2 Antecedentes internacionales	9
2. Características generales del queso	11
2.1 Origen del queso	12
2.2 Clasificación y tipos de quesos	13
2.3 Queso fresco	14
2.4 Proceso general para la elaboración de quesos	15
2.4.1 Materia prima	15
2.4.2 Recepción de la leche	15

2.4.3	Tratamiento previo de la leche -----	16
2.4.4	Estandarización y homogeneización -----	16
2.4.5	Pasteurización -----	16
2.4.6	Inoculación de cultivos iniciadores y fermentación -----	17
2.4.7	Coagulación-----	18
2.4.8	El desuerado o escurrimiento -----	19
2.4.9	Moldeo y prensado -----	20
2.4.10	El salado-----	20
2.4.11	Maduración. -----	20
2.5	Comparación y técnicas de producción en quesos artesanal e industrial.-----	22
3.	Fuente principales de microorganismos en el queso fresco-----	23
3.1	Microbiota inicial de la leche cruda -----	23
3.2	Factores que favorecen la contaminación microbiana durante la obtención de la materia prima y elaboración de queso fresco -----	25
3.2.1	Contaminación en la granja durante el ordeño -----	25
3.2.2	Contaminación durante la elaboración del queso -----	26
3.3	Factores que afectan el crecimiento microbiano y la alteración en el queso -----	27
3.4	Microorganismos contaminantes en el queso y riesgo de enfermedades -----	28
3.4.1	Coliformes totales y <i>Escherichia coli</i> . -----	29
3.4.2	<i>Staphylococcus aureus</i> . -----	33
3.4.3.	Hongos microscópicos filamentosos y levaduras. -----	36
4.	Buenas prácticas de manufactura (BPM) en la elaboración artesanal e industrial de productos lácteos (quesos) -----	38
4.1	Ordeño higiénico y la utilización de animales sanos -----	38
4.2	Control de producción-----	39
4.3	Infraestructura de la planta procesadora -----	39
4.4	Limpieza de equipos y utensilios de trabajos -----	40
4.5	Abastecimiento de agua-----	40
4.6	Personal e higiene-----	40
4.7	Transporte y almacenamiento adecuado-----	41
4.8	Conservación y control de microorganismos en el queso fresco-----	41

4.9	Requisitos microbiológicos con los que debe cumplir el queso fresco -----	41
5	Técnicas de método rápido en placas Petrifilm para recuento total e identificación de indicadores de calidad microbiológica. -----	44
5.1	Placas Petrifilm para recuento rápido de <i>E. coli</i> / coliformes -----	44
5.2	Placas Petrifilm Staph Express para el recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> .-----	45
5.3	Placas Petrifilm para el recuento rápido de hongos y levaduras -----	45
CAPÍTULO II -----		46
METODOLOGÍA -----		46
1.	Trabajo de campo -----	47
1.1	Área de estudio-----	47
1.2	Diseño experimental-----	47
1.2.1	Selección de las muestras-----	47
1.2.2	Toma de muestras. -----	47
2.	Trabajo en el Laboratorio -----	49
2.1	Análisis microbiológico-----	49
2.1.1	Preparación del medio de cultivo: Buffered Peptone Water 0.1% -----	49
2.1.2	Preparación de las muestras para el análisis microbiológico. -----	50
2.1.3	Preparación de las diluciones seriadas. -----	51
2.1.4	Aplicación de la inoculación e incubación en las tres diferentes placas Petrifilm (3M)-----	52
2.2	Lectura de los resultados-----	55
3	Análisis estadístico -----	56
CAPÍTULO III -----		57
RESULTADOS Y DISCUSIÓN -----		57
1.	Análisis de la evaluación de los indicadores de calidad microbiológica en el queso fresco artesanal e industrial -----	58
1.1	Recuento de coliformes totales en quesos frescos artesanal e industrial-----	58
1.2	Recuento de <i>Escherichia coli</i> en quesos frescos artesanal e industrial -----	65
1.3	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en queso fresco artesanal e industrial-----	72

1.4	Recuento de hongos filamentosos en quesos frescos artesanal e industrial -----	81
1.5	Recuento de levaduras en quesos frescos artesanal e industrial-----	87
CONCLUSIONES -----		94
RECOMENDACIONES -----		95
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----		96
ANEXOS -----		124

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°1. Clasificación del queso según su consistencia y maduración. -----	14
Cuadro N°2. Reglamento técnico 16-377-99, 2001. -----	42
Cuadro N°3. Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003. -----	43
Cuadro N°4. Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018.-----	44
Cuadro N°5. Incubación de las placas Petrifilm (3M) -----	54
Cuadro N°6. Recuento de coliformes totales en quesos fresco artesanal e industrial. ---	58
Cuadro N°7. Prueba U: Mann Whitney para coliformes totales en la dilución 10^2 . -----	61
Cuadro N°8. Prueba U: Mann Whitney para coliformes totales en la dilución 10^3 . -----	62
Cuadro N°9. Recuento de <i>Escherichia coli</i> en quesos fresco artesanal e industrial.-----	65
Cuadro N°10. Prueba U: Mann Whitney para <i>Escherichia coli</i> en la dilución 10^2 . -----	68
Cuadro N°11. Prueba U: Mann Whitney para <i>Escherichia coli</i> en la dilución 10^3 . -----	69
a. Análisis de la evaluación cuantitativa de la carga microbiana de <i>Staphylococcus aureus</i> -----	72
Cuadro N°12. Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en quesos fresco artesanal e industrial. -----	73
Cuadro N°13. Prueba U: Mann Whitney para <i>Staphylococcus aureus</i> en la dilución 10^4 . -----	76
Cuadro N°14. Prueba U: Mann Whitney para <i>Staphylococcus aureus</i> en la dilución 10^5 . -----	77
Cuadro N°15. Recuento de hongos en quesos industriales y artesanales.-----	81
Cuadro N°16. Prueba U: Mann Whitney para hongos filamentosos en la dilución 10^2 .- 84	
Cuadro N°17. Prueba U: Mann Whitney para hongos en la dilución 10^3 . -----	85
Cuadro N°18. Recuento de levaduras en quesos industriales y artesanales. -----	87
Cuadro N°19. Prueba U: Mann Whitney para levaduras en la dilución 10^2 . -----	90

Cuadro N°20. Prueba U: Mann Whitney para levaduras en la dilución 10³. -----	91
Cuadro N°21. Datos de la toma de muestra de quesos de la primera semana. -----	124
Cuadro N°22. Datos de la toma de muestras de quesos segunda semana. -----	124
Cuadro N°23. Datos de la toma de muestras de quesos tercera semana. -----	125
Cuadro N°24. Datos de la toma de muestras de quesos cuarta semana. -----	126
Cuadro N°25. Datos de la toma de muestras de quesos quinta semana. -----	126
Cuadro N°26. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial. -----	127
Cuadro N°27. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal. -----	128
Cuadro N°28. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial. -----	129
Cuadro N°29. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal. -----	130
Cuadro N°30. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial. -----	131
Cuadro N°31. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal. -----	132
Cuadro N°32. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial. -----	133
Cuadro N°33. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal. -----	134
Cuadro N°34. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial. -----	135
Cuadro N°35. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal. -----	136
Cuadro N°36. Prueba U: Mann Whitney, resultados de prueba de significancia entre microorganismos. -----	137

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1. Las etapas del proceso de elaboración general del queso. -----	21
Figura N°2. Gastroenteritis producida por <i>Escherichia coli</i>. -----	33
Figura N°3. Transporte, rotulado y pesado de la muestra -----	49
Figura N°4. Preparación del Buffer Peptone Water 0.1% -----	50
Figura N°5. Proceso de esterilización de medio de cultivo -----	50
Figura N°6. Esquema para la preparación de las diluciones seriadas.-----	52
Figura N°7. Esquema utilizado para la preparación de las muestras e inoculación en placas Petrifilm 3M. Fuente: (Guía de Interpretación Staph Express 3M Petrifilm, 2007); (Interpretation Guide 3M Petrifilm, 2017). -----	53
Figura N°8. Preparación de las diluciones y sembrado de la muestra -----	54
Figura N°9. Recuento de coliformes totales en 5 muestras de queso fresco industrial UFC/mL -----	59
Figura N°10. Recuento de coliformes totales en 5 muestras queso fresco artesanal UFC/mL.-----	59
Figura N°11. Análisis de la mediana para establecer diferencias en el número de coliformes totales en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^2-----	61
Figura N°12. Análisis de la mediana para establecer diferencias en el número de coliformes totales en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^3.-----	62
Figura N°13. Recuento de <i>E. coli</i> en 5 muestras de queso fresco industrial UFC/mL. ---	66
Figura N°14. Recuento de <i>E. coli</i> en 5 muestras de queso fresco artesanal UFC/mL. ----	66
Figura N°15. Análisis de la mediana para establecer diferencias en el número de <i>Escherichia coli</i> en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^2.-----	68
Figura N°16. Análisis de la mediana para establecer diferencias en el número de <i>Escherichia coli</i> en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^3.-----	69
Figura N°17. Recuento de <i>S. aureus</i> en 5 muestras de queso fresco industrial UFC/mL	73

Figura N°18. Recuento de <i>S. aureus</i> en 5 muestras de queso fresco artesanal UFC/mL.	74
Figura N°19. Análisis para establecer diferencias en el número de <i>Staphylococcus aureus</i> en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10⁴. -----	76
Figura N°20. Análisis para establecer diferencias en el número de <i>Staphylococcus aureus</i> en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10⁵. -----	77
Figura N°21. Recuento de hongos filamentosos en 5 muestras de queso fresco industrial UFC/mL. -----	82
Figura N°22. Recuento de hongos filamentosos en 5 muestras de queso fresco artesanal UFC/mL -----	82
Figura N°23. Análisis para establecer diferencias en el número de hongos filamentosos en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10². -----	84
Figura N°24. Análisis para establecer diferencias en el número de hongos filamentosos en la dilución 10³. -----	85
Figura N°25. Recuento de levaduras en 5 muestras de queso industrial UFC/mL. -----	88
Figura N°26. Recuento de levaduras en 5 muestras de queso fresco artesanal UFC/mL.	88
Figura N°27. Análisis para establecer diferencias en el número de levaduras en el recuento promedio de colonias en la dilución 10². -----	90
Figura N°28. Análisis para establecer diferencias en el número de levaduras en el recuento promedio de colonias en la dilución 10³. -----	91
Figura N°29. Muestra #1 coliformes totales y <i>E. coli</i> (Dil. 10²-10³) -----	138
Figura N°30. Muestra #2 coliformes totales y <i>E. coli</i> (Dil. 10²-10³) -----	138
Figura N°31. Muestra #3 coliformes totales y <i>E. coli</i> (Dil. 10²-10³) -----	139
Figura N° 32. Muestra #4 coliformes totales y <i>E. coli</i> (Dil. 10²-10³) -----	139
Figura N°33. Muestra #5 coliformes totales y <i>E. coli</i> (Dil. 10²-10³) -----	140
Figura N°34. Muestra #1 <i>Staphylococcus aureus</i> (Dil. 10⁴-10⁵) -----	140
Figura N°35. Muestra #2 <i>Staphylococcus aureus</i> (Dil. 10⁴-10⁵) -----	141

Figura N°36. Muestra #3 <i>Staphylococcus aureus</i> (Dil. 10^4-10^5) -----	141
Figura N°37. Muestra #4 <i>Staphylococcus aureus</i> (Dil. 10^4-10^5) -----	142
Figura N°38. Muestra#5 <i>Staphylococcus aureus</i> (Dil. 10^4-10^5) -----	142
Figura N°39. Muestra #1 hongos y levadura (Dil. 10^1-10^2) -----	143
Figura N°40. Muestra #2 hongos y levaduras (Dil. 10^2-10^3) -----	143
Figura N°41. Muestra #3 hongos y levaduras (Dil. 10^2-10^3) -----	144
Figura N°42. Muestra #4 hongos y levaduras (Dil. 10^2-10^3) -----	144
Figura N°43. Muestra #5 hongos y levaduras (Dil. 10^2-10^3) -----	145

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexos A. Datos de la toma de muestra de quesos industrial y artesanal. -----	124
Anexo B. Recuento de las colonias. -----	126
Anexo C. Análisis estadístico. Prueba U: Mann Whitney. -----	137
Anexo D. Resultados de las placas Petrifilm -----	138

RESUMEN

En este estudio, se recolectaron muestras de queso fresco blanco, blando, con sal, tanto artesanal como industrial, comercializados en la ciudad de Panamá. Las muestras se tomaron durante cinco semanas entre los meses de febrero y marzo del 2024. Los quesos fueron transportados en una nevera portátil con hielo, para mantener la cadena de frío para su análisis microbiano en los laboratorios de la Universidad de Panamá. Una vez en el laboratorio, preparamos las diluciones seriadas de las muestras y se procedió a sembrar en las tres diferentes placas de Petrifilm (3M), para el recuento de *Escherichia coli*/ coliformes, recuento Staph Express para *Staphylococcus aureus* y recuento de hongos y levaduras. Luego de la incubación anotamos los resultados y comparamos los hallazgos con los valores de referencia vigentes (DGNTI-COPANIT 16, 2003) y (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018). Los resultados obtenidos revelaron una elevada carga microbiana en ambos tipos de quesos, infringiendo los reglamentos microbiológicos de inocuidad y límites permisivos para coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus*, hongos y levaduras, indicando que ambos quesos carecen de la calidad microbiológica y son un riesgo potencial para la salud pública. Los análisis estadísticos mostraron que en todas las muestras no existieron diferencias en el número de colonias en el recuento de cada microorganismo entre ambos tipos de quesos. Los hallazgos sugieren posible utilización de leche sin pasteurizar y malas prácticas de higiene.

Palabras claves: queso fresco, calidad microbiológica, placas Petrifilm (3M).

ABSTRACT

In this study, samples were collected from fresh white, soft, salted cheese, both artisanal and industrial, marketed in Panama City. The samples were taken during five weeks between February and March 2024. The cheeses were transported in a portable cooler with ice to maintain the cold chain for microbial analysis in the laboratories of the University of Panama. Once in the laboratory, we prepared the serial dilutions of the samples and proceeded to sow in the three different Petrifilm plates (3M), for the *Escherichia coli/coliform* count, Staph Express count for *Staphylococcus aureus* and fungi and yeast count. After incubation we noted the results and compared the findings with the current reference values (DGNTI-COPANIT 16, 2003) and (Central American Technical Regulation 67.04.50:17, 2018). The results obtained revealed a high microbial load in both types of cheese, violating microbiological safety regulations and permissive limits for total coliforms, *E. coli*, *S. aureus*, fungi and yeasts, indicating that both cheeses lack microbiological quality and are a potential risk to public health. Statistical analysis showed that in all samples there were no differences in the number of colonies in the count of each microorganism between the two types of cheese. The findings suggest the possible use of unpasteurized milk and poor hygienic practices.

Key words: fresh cheese, microbiological quality, Petrifilm plate (3M).

INTRODUCCIÓN

Los microorganismos establecen interacciones mutuas con las plantas y animales de forma natural, como consecuencia, los alimentos que los seres humanos consumen pueden contener microorganismos de manera inherente o pueden ser agregados durante la manipulación y elaboración del producto (Frazier & Westhoff, 1994). Se ha podido conocer que las causas de contaminación en los alimentos puede ser químicas, físicas o biológicas, siendo la contaminación biológica, provocada por microorganismo, la más común y preocupante debido a las infecciones y brotes de intoxicaciones alimentarias que ocasionan los patógenos, representando un riesgo significativo para la salud humana (Arizcun, 1995); (Doyle, & Beuchat, 2007); (Nerín et al., 2016). Las enfermedades transmitidas a través de los alimentos ocasionadas por bacterias patógenas no solo representan un serio problema para la salud de los consumidores, sino que también genera pérdidas económicas significativas para las industrias alimentarias debido a la rápida degradación que causan (CAC/GL 21., 2013); (Orrellana & Tamara, 2020).

Un claro ejemplo de esta problemática es el consumo del queso fresco, es un derivado lácteo que se elabora a partir de la leche segregado por las glándulas mamarias de animales mamíferos como vacas, cabra, ovejas (Espinoza & Martínez, 2002). Es elaborado por la concentración de sólido de la leche a través de la coagulación y producido principalmente por pequeños agricultores y en menor escala por grandes industrias (Perez & Vargas, 2019).

A pesar de que es un alimentos básicos en la dieta de muchos panameños y uno lo más consumidos por la población en América Latina debido a su sabor y características nutritivas, puede ser vulnerable a la contaminación microbiológica si no se trata adecuadamente debido principalmente a su composición química, ya que funciona como un excelente medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos, incluso aquellos que son propios de la materia prima en especial, si no ha pasado por un proceso térmico adecuado (Ryser et al., 2001); (Ramírez & Ruiz, 2012); (Perez & Vargas, 2019). Debido al alto contenido de humedad (55 a 58%), niveles de pH ligeramente ácido (pH 5,0 a 6,3) y valor nutricional, crean las condiciones favorables para el crecimiento y supervivencia de microorganismos como enterococos lácticos, bacterias coliformes, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*, bacterias termodúricas y hongos (Brito, J et al., 2008); (Merchan et al., 2018). Aunque la mayoría de las industrias en nuestro país

elaboran el queso a partir de leche pasteurizada estos pueden volver a contaminarse después de la pasteurización por diversos factores: mediante el proceso de manipulación relacionados con malas prácticas de manufactura e higiene, malos hábitos de limpieza en las superficies de mesas, utensilios y equipos de trabajo y control insuficiente de la temperatura de almacenamiento durante el transporte y comercialización facilitando la proliferación de microorganismos patógenos (Moreano et al., 2024).

El autor (Pedroza, 2017) indica que la elaboración del queso fresco principalmente a partir de leche sin pasteurizar aumenta la transmisión de enfermedades en seres humanos representando un mayor riesgo de infecciones e intoxicaciones alimentarias. Los autores también indican que la presencia de microorganismos puede ocasionar el deterioro por acciones proteolíticas y lipídicas alterando el sabor, olor y cambios en la textura del queso (Merchan et al., 2018).

En Panamá, la elaboración de queso de forma artesanal suele ser más rudimentaria y no se tiene certeza si presentan las notificaciones sanitarias, ni los controles microbiológicos requeridos para el queso fresco de forma reguladas. Esto es importante porque las pocas evaluaciones microbiológicas en ambos tipos de quesos, puede comprometer aún más la seguridad y la calidad del queso fresco. Los autores (Araúz & Herrera, 2009) muestran que en Panamá existe un desconocimiento por parte de los pequeños queseros de los riesgos por la presencia de microorganismos patógenos en los quesos frescos, esta situación es debida a los pocos controles microbiológicos. Los autores (Mejía et al., 2021) han evaluado la manera en la que se distribuyen los quesos frescos en Panamá, mencionan que se venden a mayoristas, en supermercados o pequeños mercados, pero también se venden directamente a consumidores finales, a través de servicios de puerta a puerta sin etiquetas de forma ambulatoria y en ocasiones sin seguir las precauciones mínimas de seguridad sanitaria en el transporte, almacenamiento y distribución.

Todos estos factores pueden aumentar la carga microbiana en el queso, pero para poder garantizar la calidad y reducir la presencia de patógenos en el queso dependerá del tratamiento térmico adecuado de la materia prima, si se aplican correctamente las buenas prácticas de manufactura e higiene durante la producción, incluso durante la venta, condición de almacenamiento durante el transporte y controles microbiológicos de forma reguladas para

garantizar un producto final de alta calidad (Moreno, 1988); Ruth & Maurtua, 2003); (Brooks et al., 2012).

Los productos lácteos en Panamá una vez elaborados deben cumplir con una calidad microbiológica óptima para su consumo, la cuales están normalizadas por el (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003) y también por el reglamento (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018) que establecen los límites permisibles de microorganismos indicadores que no deben sobrepasar en los productos lácteos.

Por las razones ya expuestas, el propósito de nuestro trabajo es evaluar la calidad microbiológica en las muestras de queso blanco, de consistencia blanda, con sal de tipo artesanal e industrial, comercializados en la ciudad de Panamá, con el fin de verificar el cumplimiento con los reglamentos de inocuidad y límites permisivos microbiológicos para el queso fresco. Pretendemos no solo, aportar información útil para las industrias productoras de quesos y organismos estatales reguladores de la calidad microbiológica, si no también sentar una base para futuras investigaciones que vayan orientadas a mejorar la calidad y seguridad del queso fresco para los consumidores panameños a través de recomendaciones prácticas.

Por lo expuesto anteriormente, se definieron los siguientes objetivos:

OBJETIVOS

1.1 Objetivos generales

Evaluar cuantitativamente la presencia de indicadores de calidad microbiológica en muestras de quesos blancos, blandos, con sal, de tipo artesanal e industrial, comercializados en la ciudad de Panamá.

1.2 Objetivos específicos

- Colectar y procesar muestras de quesos artesanal e industrial para determinar la carga microbiana de coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras.
- Determinar posibles diferencias entre la carga microbiana de queso producido artesanal e industrial empleando técnica de dilución seriada e incubación en las tres placas Petrifilm 3M.
- Comparar los resultados obtenidos mediante recuentos de las placas Petrifilm 3M con los estándares existentes microbiológicos de inocuidad y límites permisivos para coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras

HIPÓTESIS

- **Hipótesis 1:** Los quesos blancos, blandos, con sal de tipo artesanal, e industrial comercializados en la ciudad de Panamá, cumplen con los reglamentos microbiológicos y estar dentro de los límites permisibles de inocuidad microbiológica.
- **Hipótesis 2:** Los quesos artesanales presentan una carga microbiana un poco más elevada que la carga microbiana en el queso industrial, debido a las diferencias durante la elaboración, manejo y comercialización del queso artesanal.

CAPÍTULO I
MARCO TEÓRICO

1. Revisión bibliográfica

Según la OMS, sobre la inocuidad de los alimentos, se estima que cada año se enferman en el mundo unos 600 millones de personas, casi 1 de 10 personas por ingerir alimentos contaminados y 420 000 mueren por esta misma causa (OMS, 2020). La contaminación microbiana en alimentos puede producirse en cualquiera de las etapas del proceso de fabricación, transporte y almacenamiento, debido a la manipulación incorrecta en el hogar, en el mercado o industria; esto puede resultar en enfermedades diarreicas que afectan aproximadamente 220 millones de niños cada año, de los que 96 000 acaban muriendo (OMS, 2020).

Existen muchos estudios relacionados con investigaciones sobre el hallazgo de microorganismos patógenos y la cuantificación microbiana en diferentes tipos de quesos frescos con diferentes técnicas de recuento e identificación. Los análisis microbianos que se han realizado se enfocan en el recuento de microorganismos que puedan estar presentes en los alimentos y que puedan comprometer la calidad del producto y que han puesto en riesgo la salud de los consumidores.

1.1 Antecedentes nacionales

El autor (Montero, 2022) menciona que en Panamá existe poca evidencia o publicaciones a nivel nacional sobre la seguridad y calidad de la leche cruda de vaca según las condiciones fisicoquímicas y microbiológicas, además mencionan que la producción de leche presenta fluctuaciones negativas con respecto a la producción en cuanto a demanda la cual se genera principalmente en pequeñas explotaciones convirtiéndose en las principales fuentes de ingreso de muchas familias con una producción aproximada de 5,000 productos de leche y en cuanto a su calidad de estos solo el 8% general leche de nivel A, mientras que el 12 y el 80% proporciona leche de nivel B y C.

La Gaceta Oficial del órgano del estado panameño mencionan que la leche cruda secretada durante el ordeño de vacas sanas debe presentar las siguientes especificaciones mínimas la cual no debe presentar 8.50% de sólidos no grasos y menos de 3.5% de materia grasa y un total de sólidos no inferior a 12% para el consumo y elaboración de los productos lácteos y de acuerdo a su calidad microbiológica se clasifican como leche cruda grado A la cual presenta un recuento

de bacteria no mayor de 200,000 por mililitro ni residuo de antibiótico y desde su obtención hasta su llegada a la planta pasteurizadora debe mantener una temperatura no mayor a 10°C; la leche cruda grado B que es aquella que presenta un recuento de bacterias no mayor a los 500,000 por mililitros cuando se entrega a la finca, pero no debe presentar recuento mayores a los 1,000,000 por mililitros cuando se entrega a la plantas procesadoras y la leche cruda grado C o industrial es aquella que no llena los requisitos de la leche grado A y B (Asamblea Legislativa, Decreto de Gabinete número 229, 1970).

Los principales provincias donde se produce la leche de acuerdo a su calidad y que también van destinada para la fabricación de productos lácteos son los siguientes: Chiriquí produce un 3% equivalente a 1 millón de litros de leche grado A, un 25% , equivalente a 270 mil litros leche de grado B, la provincia de Azuero produce leche de grado A con 19% de crecimiento, y 435 mil litros, leche grado C con un 8% de crecimiento y 430 mil litros y Coclé produce leche grado A con un 20% de crecimiento que equivale a 215 mil litros (Cadena Agroalimentaria Producto de Leche. Panamá, 2021).

En Panamá en el año 1980 se realizó una evaluación con el fin de evaluar los quesos nacionales pasteurizados desde un punto de vista microbiológico para detectar bacterias coliformes, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras. Utilizaron treinta muestras escogidas al azar, de cada uno de tres tipos de quesos y se realizó el análisis microbiano mediante recuento en placas por siembra en profundidad, los resultados indicaron que hubo el 11.1% de las 90 muestras de quesos estudiados, presentaron colonias típicas de coliformes, en cuanto a *Staphylococcus aureus* los tres tipos de quesos presentaron un número significativos de *S. aureus* coagulasa positivo lo cual indicaba que hubo un total de 90 muestras de quesos pasteurizados nacionales, el 68.8% presentaron *S. aureus* positivo, por otro lado, el 26.6% de un total de 90 muestras presentaron hongos y levaduras, aunque la mayoría no eran patógenos, pero que de igual manera representaba cifras de consideración (Ubillus De Piñango, 1980). En el año 2009 se realizó una investigación con el objetivo de evaluar la presencia de toxinas en el queso. Tomaron muestras de quesos blancos molidos y salados de tres tiendas de autoservicios diferentes durante 16 semanas para realizar análisis fisicoquímicos y análisis microbiológicos con las técnicas de TECRA SET VIA para analizar las toxinas de *S. aureus* en placas de Petrifilm Staph Express y de mesófilos aerobios para confirmar las presencias de estos microorganismos. Los resultados

obtenidos demostraron que no hubo presencia de toxinas de *S. aureus*, pero observaron valores por encima de 10^4 UFC/g, los cuales se encontraban por encima de los parámetros de reglamentos microbianos panameños. Concluyeron que los resultados infieren en la temperatura y el pH fueron factores importantes en la proliferación de *S. aureus* (Araúz & Herrera, 2009). Von Chong y sus colegas evaluaron la presencia de *Listeria* spp en muestras ambientales tomadas dentro de una empresa de producción artesanal de quesos frescos blancos en la provincia de los Santos de las 72 muestras evaluadas, se encontró que el 70% de ellas resultaron positivas para la presencia de *Listeria* spp, un hallazgo interesante en esta investigación es que se observaron diferencias estadísticamente significativas al 99% de probabilidad entre la cantidad de *Listeria* spp que se encuentra en las zonas de contacto directo (46.7%) y las zonas de contacto indirecto (36.3%) con el alimento (Von Chong et al., 2014). En el año 2019 en la ciudad de Panamá se realizó la colecta de muestras de quesos con sal, bajo en sal y queso crema seleccionados de forma aleatoria en una industria productora de quesos y productos lácteos; se propuso detectar bacterias coliformes totales, coliformes fecales, *Staphylococcus aureus*, mohos y levaduras en quesos frescos y quesos crema mediante métodos rápidos con placas de Petrifilm y análisis de comparación múltiple de media por medio de la prueba estadística de Tukey y Bonferroni para cada tipo de quesos. Los resultados mostraron que no hubo una diferencia significativa en sus características microbianas en los quesos sugiriendo una alta calidad y seguridad para el consumo donde se pudo evidenciar que la aplicación de las medidas de BHM permitió obtener recuentos microbiológicos dentro de los límites permitidos y los parámetros sugeridos para su consumo (Perez & Vargas, 2019).

1.2 Antecedentes internacionales

Los autores (Díaz-Rivero & Gonzales de García, 2001) citan los datos epidemiológicos reportados por INPPAZ OPS/OMS señalando que el año 1993 hasta el 2000, en las regiones de América Latina y el caribe ocurrieron 191 brotes por intoxicaciones estafilocócica 6,433 afectados y 2 muertes, de esos brotes 48 fueron reportados en Venezuela, de los cuales 40 casos fueron por el consumo de queso contaminado.

La identificación de los microorganismos asociados a los brotes reportados a las entidades de salud de América Latina y Estados Unidos demuestra que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia*

coli, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y *Clostridium perfringens* han sido los principales agentes etiológicos implicados en el consumo del queso (Merchan et al., 2018).

Los autores (Ramirez et al., 2016) citan los datos recopilados de la Agencia Europea de seguridad alimentaria EFSA, de los 293 brotes por toxinas estafilocócicas en el 2009 en el ámbito de la UE, siendo el queso el alimento más implicado. Hay un informe en el año 2015 que reportan la evidencia en países latinoamericanos especialmente en Colombia, de eventos de enfermedades transmitidas en alimentos como la leche, productos lácteos y derivados por el consumo de quesos en la incidencia y cargas de bacterias microbiológica patógenas (173 brotes) de los cuales se aislaron los siguientes agentes identificados responsables de los brotes de enfermedades transmitidas por alimento: *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, complejo *Entamoeba histolytica/dispar*, entre otros. (Guerrero, 2015).

Merchán y sus colegas en el 2019 realizaron una investigación para determinar la carga microbiana de quesos artesanales comercializados en la ciudad de Tunja, Colombia mediante técnicas convencionales para determinar los riesgos potenciales para la salud según las normas técnicas colombianas. Se analizaron 31 muestras y se pudo determinar los promedios obtenidos de microorganismos encontrados en las muestras de quesos que fueron: para aerobios mesófilos fue de 6×10^6 UFC/g; coliformes totales de $6,29 \times 10^5$ UFC/g; coliformes fecales de $3,99 \times 10^5$ UFC/g, *Staphylococcus aureus* de $1,6 \times 10^5$ UFC/g y para mohos y levaduras de $4,1 \times 10^5$ UFC/g, también prevalencia de *Listeria monocytogenes* fue de 3,6% y en *Salmonella sp* de 3,1%, los análisis presentaron recuentos superiores a los establecidos por la norma, indicando que las muestras no contaban con las condiciones higiénicas adecuadas para su consumo (Merchán et al., 2019). En otro estudio, López y sus colegas examinaron un total de 72 muestras de quesos frescos de 700 gramos, producidos en una quesería artesanal, las áreas de muestreo incluyeron la planta de producción, el camión de transporte cuando llegan al mercado y el lugar de venta al público, realizaron mediciones de parámetros físico químicos como el pH, la acidez, la actividad de agua y la temperatura, además de recuentos microbiológicos que evaluaron indicadores de calidad como los coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y Enterobacterias, utilizando placas Petrifilm, identificaron posibles puntos de contaminación en distintas etapas del proceso y se observó el tiempo transcurrido entre ellas, desde la recepción de la materia

prima hasta la venta del producto final, los resultados mostraron un aumento en la concentración de coliformes totales en las muestras de queso fresco, después de la producción en la quesería, el recuento fue de $4.27 \pm 0.03 \log_{10}$ UFC/g, luego del transporte al lugar de venta, subió a $5.92 \pm 0.48 \log_{10}$ UFC/g y, finalmente aún más a $6.38 \pm 0.30 \log_{10}$ UFC/g en el mercado donde se vendía directamente al consumidor. Debido a la alta carga microbiana, se determinó que las muestras no cumplían con los requisitos microbiológicos establecidos en la norma NTP 202.087, que requiere un máximo de 3 \log_{10} UFC/g (López & Veintimilla, 2019). En la Región de Cajamarca, Perú se realizó una investigación para conocer la calidad bacteriológica en muestras de quesos frescos industrial para determinar su potencial como riesgo para la salud, sugeridos por las normas sanitarias que constituye los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Se analizaron un total de 30 muestras provenientes de 6 empresas diferentes productoras de quesos industriales establecidos como (A, B, C, D, E y F). Se determinaron los valores promedios de microorganismos encontrados en las muestras que fueron: mesófilos viables 1.06×10^5 UFC/g, coliformes totales 6.32×10^3 NMP/g, coliformes fecales 4.75×10^3 NMP/g, muestras positivas para *Escherichia coli* 33.3%, *Staphylococcus aureus* 4.02×10^3 UFC/g y ausencia de *Salmonella* spp. Basándose en los resultados con la norma sanitaria determinaron que los quesos producidos en la industria F son mejores en cuanto a la calidad sanitaria (Vásquez et al., 2018).

2. Características generales del queso

La (FAO/OMS, 2020) define el queso como aquel producto blando, semiduro y extraduro, madurado o no madurado, obtenido por la coagulación de la proteína de la leche entera (caseína), leche desnatada/descremada, nata (crema), leche de mantequilla o manteca o cualquier combinación de estos materiales por acción del cuajo u otros coagulantes apropiados para que se separa del suero. De acuerdo con los autores (Perez & Vargas, 2019) el queso, es un popular alimento que se elabora concentrando los sólidos de la leche mediante la coagulación enzimática, producido principalmente por pequeños agricultores y en menor escala por grandes industrias. El queso es la fracción sólida que se obtiene por coagulación enzimática de la leche y está compuesta por caseína (proteína de la leche), grasa, sales soluble e insoluble, agua, lactosa y albumina (Hernández, 2002).

Según (López et al., 2020) el queso puede encontrarse en forma sólida o semisólida, el cual se obtiene por la coagulación y separación del suero de la leche pasteurizada de diversas especies, como vaca, cabra u otras y por acción enzimática previa de la lactosa. En relación con el queso artesano no existe una definición universal, pero se conoce como un producto elaborado con la leche de una sola explotación generada individual, familiar o asociativa y que pueden emplear leche cruda conservando los microorganismos característicos que dan tipicidad al producto final (INDO, 1986); (Ares, 2002).

Desde el punto de vista nutricional, el queso comparte casi las mismas propiedades nutricionales que la leche, excepto porque contiene más grasas y proteínas concentradas, pero en general este alimento es rico en fuente de calcio, proteínas, grasas, vitaminas A y D (Organización interprofesional láctea. INLAC, 2018). Las proteínas de la leche el 80% corresponden a la caseína y el 20% a proteínas del suero, esto tiene una gran relevancia en las industrias del queso ya que son las caseínas las que se coagulan en la cuajada, mientras que el 20% queda en el suero; sin embargo, los quesos frescos contienen menos proteínas que los madurados (Lobos & Pávez, 2021). Dentro del aporte de los carbohidratos, la gran mayoría corresponde a la lactosa rica en fuente de energía, en el caso del queso fresco de consumo inmediato este contiene al igual que la leche un aporte de lactosa similar (Lobos & Pávez, 2021). El contenido de grasa en el queso, y al igual como ocurre con las proteínas, esta se queda en la mayoría en la cuajada durante el proceso de la elaboración, está característica hace que el queso sea un producto con un mayor aporte de grasa por porción (Organización interprofesional láctea. INLAC, 2018).

2.1 Origen del queso

Los orígenes exactos de los quesos no se conocen, pero probablemente muchas comunidades almacenaban la leche para conservar en recipiente de piel, cerámicas porosa o madera, en condiciones que eran difícil de mantener limpios, de esta manera descubrieron que la leche se fermenta rápidamente acidificando y en temperaturas adecuadas se formaba un gel, por lo que cuando eliminaban la mayor parte del suero se obtenía un queso fresco (LIPA, 2020). Otras versiones sobre el origen del queso indican que se produjo de forma accidental, se cree que este origen tiene costumbre mediterránea de un mercader árabe llevar la leche en una bolsa hecha del estómago de un cordero y durante el transporte por el desierto, descubrió que la leche se encontraba coagulada y fermentada en fracciones líquidas (suero) y otra semisólida (el queso)

debido al fermento del cuajo del estómago del cordero junto con las altas temperaturas del desierto, sin conocer los orígenes de esos cambios las personas se dieron cuenta que era un alimento de buen sabor (Vásquez et al., 2005). Durante la época imperial, los romanos extendieron su fabricación a lo largo de su territorio y para la edad media de manera accidental pudieron elaborar grandes variedades, de las cuales hoy aún perduran (Vásquez et al., 2005). Hasta principios del siglo XX, la elaboración de queso se mantuvo de manera artesanal, hasta las aplicaciones tecnológicas con bases científicas que permitieron la fabricación del queso a gran escala (Arévalo, 2014).

2.2 Clasificación y tipos de quesos

La clasificación de los quesos se determina mediante varios parámetros como lo son su composición y características física:

- El tiempo en el proceso que debe transcurrir desde su elaboración hasta que esté listo para su consumo, según esto, se dividen en: queso madurado, que son aquellos quesos que son sometidos a procesos de maduración los cuales no está listo para su consumo después de su fabricación, sino que debe mantenerse durante cierto tiempo y en unas condiciones tales que se produzcan los cambios bioquímicos y físicos necesarios, por otro los quesos no madurado (quesos frescos), son aquellos que están listo para su consumo inmediato o después de su fabricación y queso fundido (procesado), que son elaborado moliendo, mezclado, fundiendo con la ayuda de calor, con o sin la adición de otros componentes lácteos o productos alimenticios. (RTCA 67.04.70:14, 2016).
- El queso se clasifica de acuerdo con su consistencia, medida por su porcentaje de humedad o sin materia grasa (HSMG), agrupándose en: blando con un contenido de porcentaje de humedad sin materia grasa es de 67%, duro con un contenido de HSMG mayor o igual 49% y menor o igual a 56%, semiduro con un contenido de HSMG mayor o igual a 54% y menor o igual a 69% y extraduro con un contenido de HSMG es de menor a 51% (RTCA 67.04.70:14, 2016).
- Según su contenido de materia grasa sobre el extracto seco %G/ES, los quesos se clasifican como extra-graso (>60% G/ES.), graso (entre 45 y 60% G/ES.), semi graso

(25-45% G/ES.), semidesnatado (entre 10 y 25% G/ES.) y desnatado (<10% G/ES.) (Tot Formatge, 2020).

Cuadro N°1. Clasificación del queso según su consistencia y maduración.

Según su consistencia: termino 1		Según las principales características de maduración: Término 2
HSMG %	Denominación	
Menor a 51%	Extraduro	Madurado
Mayor o igual a 49% y menor o igual a 56%	Duro	Madurado por mohos
Mayor o igual a 54% y menor o igual a 69%	Firme/ Semiduro	No madurado/fresco
Mayor 67%	Blando	En salmuera

Fuente: Reglamento técnico centroamericano (RTCA 67.04.70:14, 2016).

2.3 Queso fresco

El queso fresco se entiende como aquel producto no madurado, blando obtenido de la coagulación de la leche y que está listo para el consumo poco después de su fabricación (FAO/OMS, 2020). Es el queso no madurado ni escalado, se prepara con leche entera, semidescremada, se coagula con enzimas o ácidos orgánicos, por lo general sin la adición de cultivos lácticos, textura firme, levemente granular y se les denomina típicamente como quesos blancos (NTE INEN 1528, 2012). También se entiende por queso fresco, aquel producto obtenido por la coagulación de la leche pasteurizada, leche integrada o parcialmente descremada, con el propósito de obtener la cuajada el cual está constituido esencialmente por la coagulación de la proteína de la leche (caseína), para la formación del gel de la caseína más o menos deshidratado (desuerado) mediante la acción enzimática del cuajo o renina (Gonzales, 2002).

Se caracteriza por ser un producto con un alto contenido de humedad (60 a 80%), un alto contenido proteico, por no tener corteza o tener corteza muy fina, presenta un color blanco, además se pueden o no adicionar aditivos o integrantes adicionales (Norma Oficial Mexicana NOM-223-SCFI/SAGARPA, 2019). Este tipo de queso se ubican en la categoría de quesos blandos, tiene sabor suave ligeramente ácido, puede o no tener ingredientes opcionales, consistencia pastosa, un periodo de vida de anaquel corto y requieren de condición de refrigeración de 4°C, se consideran ejemplos de quesos frescos y blandos: el queso blanco, queso crema, ranchero, Oaxaca, adobera, requesón (Ramírez & Ruiz, 2012). El queso fresco, se considera microbiológicamente inseguro debido a la presencia de patógenos presentes en la materia prima, en la utilización de leche cruda y al ser un alimento de manipulación para su fabricación, lo que representa un riesgo para la salud humana (Merchan et al., 2018).

2.4 Proceso general para la elaboración de quesos

Entender las etapas de elaboración del queso es importante para prevenir factores de contaminación microbiana con el fin de implementar las medidas necesarias para evitar contaminaciones que comprometan la seguridad alimentaria para los consumidores, la calidad del producto y el cumplimiento de los reglamentos microbiológicos.

2.4.1 Materia prima

La leche es la materia prima principal para la elaboración de queso, puede ser natural o parcialmente desnatada, obtenida de la nata, el suero de mantequilla o una combinación de estos productos lácteos proveniente en su mayoría de vaca o de ovejas, cabras y búfalos (Cobos et al., 2023).

2.4.2 Recepción de la leche

Una vez llegada la materia prima al establecimiento, es esencial analizar la leche para asegurarse que esté limpia y apta para su consumo esto se puede hacer mediante análisis sensoriales evaluando olor, color, así como mediante análisis microbiológicos de laboratorio y pruebas fisicoquímicas como acidez y el porcentaje de grasa (Soruco, 2013).

2.4.3 Tratamiento previo de la leche

El primer paso para realizar consiste en la filtración de la leche para eliminar sustancias extrañas, procedente de la manipulación desde el ordeño hasta el traslado de la elaboración y dependiendo del queso a fabricar la adición o eliminación de la nata de la leche (Vázquez et al., 2005).

2.4.4 Estandarización y homogeneización

La estandarización de la leche es el proceso por el cual se mantiene el contenido graso a niveles estables y se ajustan los niveles de proteínas según los requerimientos mínimos establecidos por las normas, en el caso de la leche entera se debe estandarizar a 3% de materia grasa (Stuardo, 2006). La homogeneización es el proceso mediante el cual se someten las grasas a altas presiones, con el fin de que quede dispersa por toda la masa líquida evitando la formación de una capa de crema en la superficie de la leche entera y proporcionando una mejor digestibilidad y característica organoléptica (Stuardo, 2006).

2.4.5 Pasteurización

La pasteurización es un procedimiento que emplea la combinación controlada de tiempo y temperatura mediante el tratamiento térmico con el objetivo de eliminar los microorganismos patógenos y reducir la flora asociada que puedan encontrarse en la leche cruda o puedan contaminarla durante el ordeño, envasado o almacenamiento, para prolongar la vida útil de la leche sin alterar su composición química y características organolépticas (Guaraca & Guaraca, 2019). El autor (Stuardo, 2006) indica que este método consiste en desinfectar la leche la cual será sometida primero a calor sin sobrepasar los 100°C solo a temperatura necesaria para eliminar microorganismos patógenos y luego a un enfriamiento rápido, en las industrias suelen utilizar tinas de pasteurización ajustando las variables tiempo y temperatura.

En el proceso de la pasteurización, el objetivo principal no es erradicar por complemento los microorganismos, sino asegurar y disminuir los microorganismos patógenos siguiendo estrictamente los parámetros de tiempo-temperatura, para asegurar que no representen riesgo de intoxicación alimentaria (Martínez & Rosenberger, 2013). Durante la pasteurización, no todos los microorganismos son eliminados, pero el objetivo es reducir significativamente su número; este proceso logra eliminar microorganismos no esporulados (forma vegetativa) y también

enzimas principalmente la que oxidan las grasas de la leche y aquellas enzimas que causan alteraciones en las propiedades del queso (Ferreccio & Medrano, 2010). La pasteurización es un método eficaz para prolongar la vida útil de la leche a temperatura de refrigeración, eliminar patógenos de importancia para la salud pública y microorganismos de descomposición, sin embargo, algunas esporas bacterianas como *Bacillus* spp son resistentes a la temperatura de pasteurización (Mohamed et al., 2018). Hay dos factores que afectan las muertes de las bacterias, la temperatura a la que se incrementa la leche y el tiempo a la que se mantiene la leche durante esa temperatura, estas combinaciones recomendadas para el proceso de pasteurización pueden ser dos tipos:

- Pasteurización lenta o discontinua, se aplica temperatura de 63°C durante 30 minutos, generalmente utilizando tinas de doble fondo. (Arévalo, 2014); (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018).
- Pasteurización rápida o continua, se aplica temperatura de 72°C durante 15 segundos, 89°C durante 1,0 segundos, 90°C durante 0,5 segundos, este proceso se realiza con un equipo de pasteurización; una vez pasteurizada debe ser enfriada rápidamente a inhibición bacteriana de 4°C y envasada (FAO, 1999); (Food and Drugs Administration, Department, of Health and Human Services., 2019). Se recomienda utilizar la pasteurización lenta tipo abierta, la cual implica mantener la leche a temperaturas de 63-65°C por 30 minutos y no se recomienda un tratamiento muy intenso, ya que estos pueden afectar la capacidad de la leche para coagular con el cuajo, ello significa más tiempo de coagulación o coágulo más suave, un desuerado más lento y pérdida de materia seca en el suero por un coágulo débil (Arévalo, 2014); (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018).

2.4.6 Inoculación de cultivos iniciadores y fermentación

Dependiendo del tipo de queso que se desea elaborar pueden agregarse cultivos de bacterias lácticas que facilitan la formación de coágulos, la acidificación e inhibición del crecimiento de otros microorganismos (Lobos & Pávez, 2021). En la elaboración de quesos frescos, no es necesario agregar fermentos iniciadores, lo que preserva el sabor dulce natural de la leche, sin

embargo, debido a la naturaleza no fermentada el queso puede volverse agrio con el tiempo y debe consumirse una vez esté producido como en el caso del queso fresco, en cambio para la elaboración de quesos madurados, se añaden bacterias ácido lácticas conocidos como fermentos iniciadores para que comiencen el proceso de acidificación; estas bacterias convierten la lactosa, el azúcar de la leche, en ácido láctico haciendo disminuir el pH de la leche (Genesis, 2015). Estas bacterias no solo son responsables del aroma, sino que también contribuyen a la maduración al participar en la proteólisis (ruptura de la proteína) y la lipólisis (ruptura de las grasas), estas bacterias se pueden clasificar esencialmente por su temperatura óptima de crecimiento en dos grupos: mesófilos 20-30°C y termófilos 37-45°C (Ortellado et al., 2015).

2.4.7 Coagulación

La coagulación es el proceso inicial en la transformación de la leche en queso, donde la proteína de la leche, específicamente la caseína experimenta la desnaturalización (Genesis, 2015). Durante este proceso, la leche se transforma en un gel, como resultado de las modificaciones fisicoquímicas de las micelas de caseína (Romero & Mestres, 2004). La coagulación de la leche puede ocurrir por diferentes mecanismos que inducen las modificaciones de las micelas de las caseínas según el método empleado de las siguientes maneras:

- Coagulación por actividad enzimática: la coagulación por actividad enzimática, se utiliza unas enzimas coagulante llamado cuajo que tiene la propiedad de causar la coagulación de la caseína de la leche obtenida a partir de un extracto enzimático del cuarto estómago de los rumiantes, que se obtiene mediante la maceración de estos animales, generalmente terneros, cabritos, y ovejas (Guerrero, 1995). Durante la coagulación enzimática, provocada por la acción de la renina o quimosina, se produce la formación de un gel debido a los cambios fisicoquímicos que tiene lugar en las micelas de caseína; esto se combina con un proceso de agregación, que es una fase no enzimática, la cuajada obtenida es mineralizada, compacta, flexible, elástica e impermeable (González et al., 2017). El cuajo tiene la propiedad de romper la molécula de kappa caseína a nivel de enlace entre los aminoácidos 105-106 (fenilalanina-metionina), lo cual inestabiliza las micelas y provoca la coagulación de la leche dándose la formación de la cuajada que será el proceso que dará origen al queso, estos pueden estar afectados por la temperatura debido a la acción de la enzima es máxima a temperatura de 40-42°C, el pH, contenido

de sales de calcio soluble a la leche, además para ayudar el proceso, se adiciona cloruro de calcio en una concentración entre 0,1 y 0,2 g/l de leche para favorecer la precipitación de las proteínas (VirtualPro, 2014).

- **Coagulación ácida o láctica:** se le añade los fermentos iniciadores, se deja reposar en un sitio templado, a temperatura de unos 22°C durante varias horas, estos fermentos actúan como agentes acidificantes de modo que utilizan la lactosa de la leche para obtener energía y la transformación en ácido láctico (Genesis, 2015). La cuajada tiene las siguientes características: está parcialmente desmineralizada, porosa, fiable y poco contráctil, esta puede verse afectada por factores como la temperatura, cantidad de microorganismos y tipo de microorganismos (VirtualPro, 2014). Si se añade un ácido mineral u orgánico a la leche, cuando el pH llega a 4,6, que el pH que corresponde al punto isoeléctrico de las caseínas, esta floclula formando un precipitado más o menos granuloso (Romero & Mestres, 2004). Las características principales de la coagulación ácida es la disminución del pH de la leche hasta un cierto punto isoeléctrico, la coagulación ácida es reversible, el tiempo de coagulación está en relación directa con la cantidad de ácido y temperatura de la leche (Romero & Mestres, 2004).

2.4.8 El desuerado o escurrimiento

Después de la coagulación de la leche se forman dos productos distintos que son la cuajada y el lactosuero, el primero es la caseína coagulada y el segundo es un subproducto que contiene sales, proteínas, vitamina, lactosa y grasa (Lobos & Pávez, 2021). El desuerado es el proceso mediante el cual se separa el suero de la leche una vez ha coagulado, el gel resultante retiene en su interior gran cantidad de suero y para que este suero se separe de la parte acuosa (lactosuero) del sólido que se formó por la coagulación, es necesario aplicar acciones mecánicas como el corte, la agitación y la cocción para facilitar la separación de el suero del sólido coagulado (Parras, 2009). Una vez terminada la coagulación, se debe cortar el cuajo en pequeños trozos, este procedimiento consiste en facilitar la liberación del suero y la sinéresis de la cuajada; el corte es efectuado por medio de liras, primero con las liras horizontales y después con lira vertical para formar así pequeños cubos (Cobos et al., 2023). Hay factores que contribuyen al desuerado como la agitación que tiene como objetivo acelerar el desuerado e impedir la

adherencia de los granos efectuada con agitadores o r telas y la cocción que permite la elevación de la temperatura para disminuir la hidratación de los granos de la cuajada favoreciendo la sinéresis y consistencia del grano, por último, se deja en reposo por unos minutos y se extrae con una tela suiza con un fleje de acero (LIPA, 2020).

2.4.9 Moldeo y prensado

El procesos de moldeo tiene como objetivo dar forma al queso y facilitar la aglomeración de los gránulos de cuajada; esta masa de queso se colocan en moldes de tamaño adecuados, que pueden ser de madera, metal o plástico con el fin de eliminar el exceso de suero y para dar forma, según el tipo de queso pueden ser: cilíndricos, de bola, prisma de base cuadrada, además entre el molde y la cuajada suele colocarse un paño a modo de filtro para que pueda salir el suero durante el prensado (Chaves, 2006). El objetivo del prensado es completar el desuerado, al forzar la eliminación del suero y conferir a la masa del queso su forma definitiva, este procedimiento dependerá del tipo de queso cuanto más se prensa un queso, mayor es su pérdida de agua y más en su consistencia o dureza (LIPA, 2020).

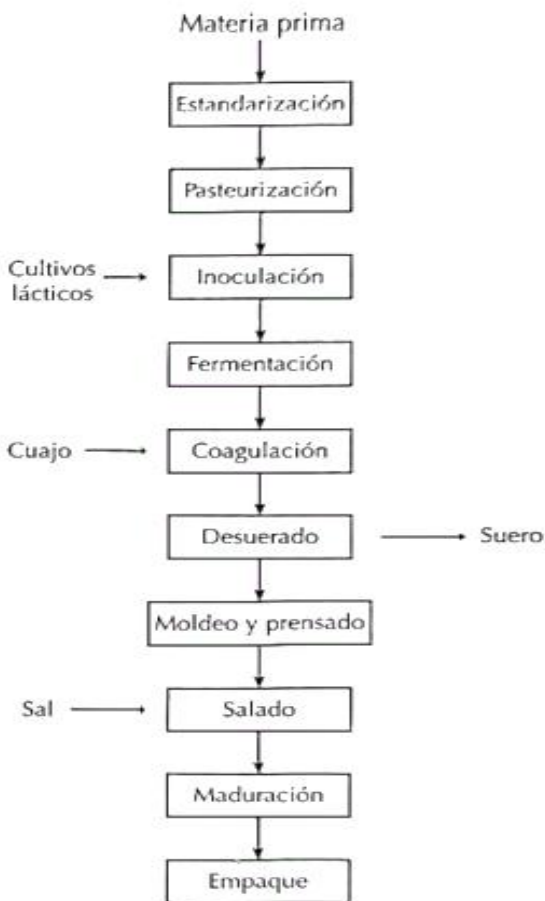
2.4.10 El salado

La función del salado es para mejorar el sabor, facilita el desuerado, facilita la conservación de los mismo evitando la proliferación de microorganismo, por último, interviene en la formación de la corteza del queso (Lobos & Pávez, 2021). El salado puede realizarse a través de distintos métodos: por inmersión, entre ellos, el salado en el suero (en quesos frescos), en la masa del queso, sobre la superficie del queso (luego del moldeado y prensado) o por un baño de salmuera (queso ya moldeado) (Lobos & Pávez, 2021).

2.4.11 Maduración.

Los quesos frescos no pasan por la fase de maduración, ya que est  listo para su consumo inmediato, pero en otros quesos, el tiempo de maduración varía de acuerdo con la característica de cada uno (Cobos et al., 2023). El proceso de maduración es cuando se orea el queso colocándolo en estantes dentro de cámaras o cuevas donde se controlan las condiciones de humedad, temperatura, la aireación, pH, contenido de sal para propiciar cambios en las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del queso, para la transformación de sus

componentes y así poder adquirir el aroma, textura, sabor y consistencia adecuada (Lobos & Pávez, 2021). Sus principales cambios durante la maduración son: la fermentación de la lactosa a ácido láctico, donde producen pequeñas cantidades de ácido acético, propiónico, CO₂ y diacetilo, realizada principalmente por bacterias lácticas, otro cambio es la proteólisis, que es uno de los procesos más importantes de la maduración, que no solo interviene en el sabor si no también en el aspecto y textura, otro proceso de maduración es la lipólisis (Ortellado et al., 2015).



ESQUEMA 4.2: Las etapas del proceso de elaboración del queso.

Figura N°1. Las etapas del proceso de elaboración general del queso. Fuente: (Hernández, 2002).

2.5 Comparación y técnicas de producción en quesos artesanal e industrial.

El queso se elabora tradicionalmente a partir de leche de vaca; sin embargo, se puede elaborar quesos frescos a partir de una mezcla de leche de oveja o vaca (Alban, 2006). En la actualidad el queso se fabrica mayormente con leche de vaca o con una mezcla de leche de oveja y vaca siendo esta última la leche que más se utiliza por el predominio del ganado vacuno, pero también se elaboran en algunas regiones en minoría con leche de cabra (Vásquez et al., 2005). Los quesos frescos son elaborados de manera industrial y artesanal, existiendo mayor riesgo de contaminación en la producción artesanal debido principalmente a la falta de implementación de buenas prácticas de manufactura (Instituto Nacional de Salud, 2011). La gran variedad de quesos que existen en el mercado son elaborados de manera artesanal, sin embargo, en la actualidad las condiciones de elaboración han mejorado debido a los progresos tecnológicos en los procesos de producción y transformación de los productos lácteos, los diferentes quesos que existen corresponde a la naturaleza y procedencia de la leche a partir de distintas especies de animales, la forma en la que se elaborarán diferenciadas por la región, condiciones climatológicas, históricas, económicas (Villegas et al., 2016).

El queso, elaborado artesanalmente mediante la fermentación de la leche de diversas especies como vaca o cabra, se destaca por ser un proceso realizado con la destreza manual y con equipos sencillos transmitido a través de generaciones por medio de recetas familiares que varían según la región; estos conocimientos tradicionales, desde la agricultura hasta la producción del queso suelen utilizar ingredientes locales o frescos y la utilización de leche cruda la cual le confiere características organolépticas y sabores con menor escala de producción. (Montel et al., 2014). Sin embargo, es importante tener en cuenta que la producción natural no siempre garantiza una mayor seguridad en término de higiene y microbiológica en comparación con los productos elaborados mediante procesos industriales ya que, los quesos elaboradas de forma artesanal no cuentan con pautas ni regulaciones de control de calidad sanitaria en comparación con los quesos elaborados por grandes industrial comerciales, a quienes se les exigen estrictos controles de calidad sanitario, además la pasteurización que utilizan los pequeños queseros es en cuba (63°C durante 3° minutos) o ningún proceso térmico, en comparación con las grandes empresas comerciales que someten su leche a una pasteurización a alta temperatura y corto plazo (72°C durante 15 segundos) ya que utilizan equipos más sofisticados y en ocasiones más mecanizados,

aunque una diferencia es que los quesos artesanales no presentan aditivos como colorantes (Cirne et al., 2019).

3. Fuente principales de microorganismos en el queso fresco

El queso fresco se considera un alimento rico en nutrientes, pero pueden funcionar como vehículos de transmisión de diversos microorganismos que puedan ocasionar enfermedades relacionadas con el consumo del queso blandos con contenidos de humedad altos, la mayoría de estos brotes se debe a la contaminación por la utilización de leche cruda o por contaminación posterior a la pasteurización por condiciones ambientales, durante el ordeño o elaboración, equipos de trabajo, manipulación, transporte y almacenamiento (Choi et al., 2016).

Dependiendo de su procedencia más frecuente se pueden agrupar dichos microorganismos en:

- Endógenos, pertenecientes al propio alimento, se encuentra en el antes de su elaboración, se destacan microorganismos patógenos de plantas y causantes de zoonosis (Morán, 2014).
- Exógenos, microorganismos que llegan a los alimentos durante su obtención, elaboración, transporte, conservación, industrialización, manipulación, etc. Se destacan microorganismos procedentes del suelo, polvo, agua, utensilios utilizados para la fabricación, superficie de contactos con los alimentos, manipulados, en general todos aquellos que proceden del ambiente y sea capaz de entrar en contacto con el alimento (Morán, 2014).

3.1 Microbiota inicial de la leche cruda

La leche contiene muy pocas bacterias al extraerla de la ubre de una vaca sana que, por otra parte, no se multiplican cuando se manipulan correctamente (García et al., 2020). Si se utiliza leche cruda para la fabricación del queso fresco, esta estará constituida por la microbiota inicial de la leche lo que puede ocasionar que sea altamente perecedera si no se trata adecuadamente durante el ordeño, pero además puede contaminarse aumentando su carga microbiana, por microorganismos patógenos provenientes por factores externos como el suelo, agua no potable, animales, las ubres del animal, el propio estiércol del animal, aire, por una mala pasteurización,

mala higiene durante el proceso de fabricación, malos hábitos de limpieza de los utensilios y equipos de trabajo (D'Incecco et al., 2021).

El microbiota de la leche y los productos lácteos puede incluir una variedad de bacterias, levaduras y mohos, algunos de los cuales son beneficiosos y otros pueden ser patógenos y, además, causar el deterioro de la leche y productos lácteos (Kumar & Patyal, 2024). El sabor del queso de leche cruda se debe principalmente a la comunidad microbiana natural presente en él, que no solo contribuyen al desarrollo del sabor, sino como probióticos, porque actúan como un sistema de defensa inhibiendo bacterias patógenas del tubo digestivo de los seres humanos; estos microorganismos son clave como indicadores de calidad y criterios microbiológicos del queso fresco, entre los géneros de bacterias presentes se encuentran: *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Lactococcus*, que producen sustancias inhibidoras, como bacteriocinas, que ayudan a prevenir la proliferación de patógenos (Merchan et al., 2018). La propiedad más importante de estas bacterias ácido lácticas que están presentes en la materia prima es su capacidad para fermentar la lactosa con producción de ácido láctico y pueden ser muy beneficiosas en la fabricación para el queso y no permiten que bacterias oportunistas crezcan (Frazier & Westhoff, 1994).

Sin embargo, se ha determinado que la producción de quesos con leche cruda de vaca puede dar lugar a una diversidad bacteriana dominada por bacterias lácticas y *Pseudomonas*, aunque puede haber presencia de bacterias del filo Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes y Actinobacteria que son considerados con mayor frecuencia como microorganismos patógenos intestinales que prosperan en entornos anaeróbicos y pueden producir enfermedades (Quigley et al., 2013). Pequeños productores de quesos artesanales habitualmente utilizan leche no pasteurizada que en muchas ocasiones proviene de animales enfermos de mastitis, representando un riesgo potencial de bacterias patógenas responsables de ocasionar mastitis en las ubres de las vacas y producir enfermedades alimentarias en los seres humanos (Perdomo et al., 2015).

3.2 Factores que favorecen la contaminación microbiana durante la obtención de la materia prima y elaboración de queso fresco

Las bacterias pueden llegar a la leche por vías externas si entran en contacto con suelo, fuentes de abastecimientos de agua, el aire, polvo acumulado, animales o el contacto directo con alimentos crudos (Chavez, 2016).

3.2.1 Contaminación en la granja durante el ordeño

➤ Contaminación propia del animal

Los microorganismos que conforman el microbiota final del queso pueden proceder de diferentes fuentes de contaminación, entre las que destacan la contaminación propia del animal en los entornos de ordeño donde la leche se contamina a partir del animal especialmente en la zona externa de la mama o área próxima que hayan estado en contacto con el suelo, estiércol o agua estancada (García et al., 2020). La leche utilizada para la producción de queso puede contaminarse en el momento de la síntesis u obtención de la leche de las glándulas mamarias donde puede haber gérmenes inocuos del ganado vacuno, así mismo en el exterior de la ubre puede hallarse microorganismos (Gutiérrez et al., 2021).

➤ Contaminación de equipos y utensilios de trabajo

La contaminación puede también surgir durante la recolección por la utilización de las máquinas de ordeños, los cubos y recipientes donde se almacena la leche y utensilios para el ordeño que no hayan sido limpiados correctamente y un mal mantenimiento de la temperatura durante el almacenamiento y transporte de la leche hacia la fábrica donde se elabora los productos lácteos contribuyen a que aumente la carga microbiana (Gutiérrez et al., 2021).

➤ Contaminación por manipulación por parte del ordeñador

La contaminación mecánica durante el ordeño suele ser menor que con el manual, debido a que las manos del ordeñador y otras personas sirven como fuente de contaminación microbiana en especial por bacterias patógenas, pero esta contaminación se reduce con el lavado correcto del ordeñador, esquilando los costados de la ubre, cepillando el animal y

lavando las mamas con agua o con una solución germicida antes de ordeñar (Decheco, 2006).

3.2.2 Contaminación durante la elaboración del queso

A pesar de que la leche pase por un proceso de pasteurización al ser un producto de origen animal y rico en nutrientes, puede contaminarse después de la pasteurización por amplio espectro de microorganismos provenientes de diferentes fuentes, relacionados con una mala falla en el proceso térmico, además el problema radica en que los microorganismos patógenos en la leche pasteurizada pueden ser capaces persistir sin causar alteraciones organolépticas aumentando los riesgos sanitarios (Luigi et al., 2013). El autor (Schön et al., 2016) indica que aunque la leche cruda se considere como el principal contribuyente a la contaminación del queso, no es la única fuente, los microorganismos pueden ser inoculados intencionalmente durante la utilización de cultivos iniciadores lácticos, durante el proceso de maduración por el personal de trabajo o en el entorno de la producción por contaminación ambiental por bacterias y hongos presentes en el aire, además algunos patógenos tienen la capacidad de formar biopelículas y persistir en las superficies de contactos con los alimentos o equipos de trabajo por lo cual se ha relacionado con la contaminación cruzada durante y después de la producción. En las industrias con instalaciones modernas para la producción de queso, se pueden formar biopelículas de bacterias psicrotóxicas, bacterias lácticas no iniciadoras en las superficies de los equipos, convirtiéndose en fuentes de contaminación en lotes sucesivos de queso, además las superficies de mesas para el procesamiento, las tinas de leches, entre otros equipos también son fuentes ricas de microbios que pueden ocasionar alteraciones microbiológicas y fisicoquímicas durante la fabricación del queso por una mala limpieza y desinfección de los equipos de trabajo (Didienne et al., 2012). Durante la elaboración del queso, el producto se encuentra con muchas superficies de equipos en su viaje desde la leche hasta la cuajada y el queso, todas funcionando como vectores potenciales para los microbios, por lo tanto, el área de procesamiento puede funcionar como un reservorio importante para la transferencia de microbios si existen malos hábitos de limpieza en los equipos (Bokulich & Mills, 2013). Estos riesgos de contaminación están relacionados cuando no se cumplen con las medidas higiénicas adecuadas durante la etapa del proceso de fabricación y distribución por medio de la manipulación por manos o el uso de equipos de

trabajo con una deficiencia de limpieza cuando se realiza la preparación del queso en el hogar o el mercado por medio de los trabajadores (Kousta, et al., 2010).

Cuando algunos de estos puntos no son controlados, la posibilidad de encontrar agente contaminante aumenta, está puede englobar en dos tipos de contaminación:

- La contaminación cruzada directa: esto ocurre cuando un alimento contaminado entra en contacto directo con uno que no lo está y le transfiere su contaminación (Reid et al., 2021).
- La contaminación cruzada indirecta: es la transferencia de los microorganismos que llegan de un alimento contaminado a otro alimento a través de la manipulación por manos, utensilios de trabajo como cuchillos y superficies como las tablas de corte (Reid et al., 2021).

Otra fuente de contaminación son los refrigeradores de almacenamiento en quesos de leches pasteurizada (Brito, J et al., 2008). La temperatura de almacenamiento es un factor clave que puede influenciar en la actividad microbiana, la cual puede variar durante y después del procesamiento del producto ya que es difícil mantener de manera constante la temperatura en cada etapa de la cadena de alimento, por lo que es necesario mantener informado sobre el control adecuado del manejo seguro y la temperatura de almacenamiento de la leche y productos lácteos (Ziyaina et al., 2018).

3.3 Factores que afectan el crecimiento microbiano y la alteración en el queso

El deterioro del queso dependerá de su composición química, pero también por microorganismos presentes en la materia prima inicial y en el producto inicial (Cepida, 2022). Los factores que influyen en la supervivencia y crecimiento de los patógenos en el queso y su deterioro son parámetros químicos propios del queso como lo son: la alta actividad del agua, el pH como la baja acidez, la concentración de sal, contenido de nutrientes, los conservantes, contenido de humedad alto y parámetros físicos como las condiciones ambientales de almacenamiento como la temperatura y humedad del ambiente, así como el saneamiento inadecuado permiten el desarrollo para que las bacterias patógenas propias de la materia prima y microorganismos provenientes del ambiental durante el proceso de elaboración (Gould et al.,

2014). Los defectos y las alteraciones en el queso se entienden como una disminución de la calidad refiriéndose al olor, sabor, color, consistencia, textura y aspectos exteriores por factores microbiológicos y tecnológicos relacionados con la calidad de la materia prima, condiciones higiénicas de producción y tecnología de fabricación (Moreno, 1988).

Estos microorganismos presentes en la materia prima como bacterias del géneros de *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp y *Lactococcus* spp, son beneficiosos y contribuyen a mejorar las características organolépticas, sin embargo, también puede haber microorganismos patógenos y alterantes que pueden colonizar el queso, entre ellos se encuentran ciertas especies de mohos, bacterias *Pseudomonas* spp, *Clostridium* spp, *Bacillus* spp, *Staphylococcus* spp y otros microorganismos psicotrofos, estos microorganismos presentan enzimas proteasas extracelulares y lipasas que catalizan la hidrólisis de las grasas, su actividad proteolítica degradan la caseína dando lugar péptidos que dan un sabor amargo, por otro lado su actividad lipídica degrada los lípidos dando lugar a ácidos grasos lo que contribuye a dar un sabor amargo, cambios de color y olores anormales en la leche, pero estas enzimas se inactivan por tratamientos térmicos (Sanz, 2021).

Otra alteración del queso es la formación de gas, ácido volátiles y otros productos perjudiciales debido al desdoblamiento de la lactosa apareciendo hinchazón en la masa del queso entre estos microorganismos se encuentran las levaduras que producen sabores anormales, bacterias *E. coli*, especies del género *Clostridium* y bacterias del tipo *Bacillus* que son responsables de producir a partir de la lactosa ácido láctico, ácido acético, alcohol, anhídrido carbónico, hidrogeno y de producir hinchazón precoz (Moreno, 1988).

Las bacterias termodúricas que son aquellas capaces de resistir a tratamientos térmicos como la pasteurización entre ellas se encuentran especies de *Bacillus*, *Lactobacillus* y algunas especies de hongos como *Aspergillus* y *Penicillium* causando defectos en la textura, olores desagradables, alteración del pH y formación de gases (Frazier & Westhoff, 1994).

3.4 Microorganismos contaminantes en el queso y riesgo de enfermedades

El queso una vez producido debe cumplir con las normas de calidad higiénica para asegurar que sea apto para el consumo humano a través de evaluaciones que indiquen la calidad del queso,

algunos indicadores son: los físicos-químicos (humedad, pH, actividad del agua) y los microbiológicos que funcionan para determinar si hay presencia de patógenos que afecten la calidad del producto (Rios et al., 2012). Los análisis microbiológicos de recuento e identificación funcionan para detectar microorganismos indicadores de calidad sanitaria, que son aquellas especies microbianas que se encuentran en gran número indicando contaminación producto de prácticas higiénicas insatisfactorias, lo cual genera un riesgo para la salud humana (Camargo et al., 2021). Los indicadores de calidad microbiológica en los alimentos es uno de los parámetros más importante durante la producción y distribución de los alimentos, estos indicadores son fundamentales para predecir la vida en anaquel corto de un alimento y el grado de contaminación al que se encuentra expuesto a lo largo de la cadena de producción (Soria, 2020). Entre los agentes como indicadores de calidad microbiana y causantes de enfermedades transmitidas por alimentos relacionados con el consumo de queso están las bacterias, hongos, parásitos, priones y sus metabolitos secundarios como toxinas; estos microorganismos contaminan los alimentos en pequeñas cantidades, pero cuando se encuentran en las condiciones adecuadas para sobrevivir y multiplicarse pueden alcanzar los niveles necesarios para causar enfermedades por intoxicaciones como en el caso de *Staphylococcus aureus* en el queso fresco (Castillo & Glenda, 2013). Los patógenos más comunes reportados en la producción de quesos con leche cruda de vaca incluyen: *Escherichia coli* responsable de casos de diarrea infantil, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*., *Staphylococcus aureus*., *Yersinia enterocolitica* y *Brucella* spp; estos patógenos son conocidos por causar brotes de enfermedades transmitidas por alimentos ETAs tanto en Estados Unidos como en América Latina (ANMAT, 1996); (Astuñaupa, 2021). Además, aunque en menor frecuencia puede haber contaminación de hongos y levaduras (Biurrun, 1995).

3.4.1 Coliformes totales y *Escherichia coli*.

a. Coliformes totales:

Un grupo importante de microorganismos indicadores de calidad sanitaria en quesos frescos lo conforman todas las bacterias coliformes que agrupan a todas las bacterias entéricas y que pertenecen al filo Proteobacteria, orden Enterobacteriales, familia Enterobacteriaceae, que se caracterizan por tener forma de bacilos, Gram negativos, no esporulado, oxidasa negativa, capaces de fermentar lactosa, con producción de gas en 48 horas a temperatura de 37°C

(Castellanos et al., 2020). Dentro de los coliformes totales existe un subgrupo denominado coliformes fecales, estas especies habitan en el intestino de los seres humanos y animales de sangre caliente por lo cual son catalogados como indicadores de contaminación fecal en alimentos, agua y suelo, dentro de este grupo de coliformes fecales pertenecen los géneros *Escherichia* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Citrobacter* sp. (Madigan et al., 2015). Los coliformes fecales relacionados con la flora intestinal tienen la característica de ser termo tolerante, se pueden multiplicar a 44°C, pero al igual que al grupo de coliformes totales no son formadores de esporas (Soria, 2020).

La mayoría de los coliformes totales habitan normalmente en el tubo digestivo de los humanos y animales de sangre caliente, pero algunas no son necesariamente intestinales ya que algunas se encuentran normalmente en el medio ambiente por ejemplo en el suelo, en las plantas y generalmente no causan problemas en la salud, sin embargo, estas bacterias son usadas como indicadores en pruebas de agua y alimentos porque señalan la presencia de patógenos que sí pueden causar enfermedades (García, 2000); (División de Salud Pública de Carolina del Norte, 2009). Algunas de las propiedades que determinan que las bacterias coliformes sean importantes en las alteraciones que experimentan los alimentos son: la capacidad de las bacterias de este grupo para crecer perfectamente dentro de un intervalo de temperaturas bastante amplio, desde temperaturas inferiores a 10°C hasta una temperatura próxima a los 46°C, su capacidad para producir importantes cantidades de ácido y gas a partir de azúcares, su capacidad para producir sabores desagradables (Frazier & Westhoff, 1994).

Los coliformes son utilizados como indicadores sanitarios para la detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo para la fabricación de los alimentos mediante la manipulación por manos y equipos de trabajo, también para evaluar la calidad microbiológica de un producto y la calidad sanitaria del agua utilizada en las diferentes áreas para la elaboración de alimentos (Castillo & Glenda, 2013).

b. Escherichia coli:

➤ Características y epidemiología

Escherichia coli es un subgrupo de coliformes fecales (Candelaria & Cecilia, 2009). *E. coli* es una bacteria Gram negativa, oxidasa negativa, con forma de bastón de la familia Enterobacteriaceae, es capaz de crecer tanto aeróbicamente como anaeróbicamente, preferiblemente a 37°C, y puede ser móvil o inmóvil, con flagelos peritrico (Croxen et al., 2013). El hábitat normal en donde se encuentra la bacteria de *E. coli* es en el intestino de los seres humanos, animales de sangre caliente y pueden encontrarse en las heces de animales, desde donde pueden contaminar alimentos crudos, la leche, especialmente si los animales han estado tumbados en su propio estiércol, si las ubres y los pezones no se han lavado adecuadamente antes del ordeño (Fox et al., 2017). El autor (Guerrero, 2023) señala que la transmisión de *E. coli* es de origen fecal y generalmente ocurre de persona a persona o bien a través de agua y alimentos contaminados, como podría suceder con la leche, esta puede resultar contaminada si las máquinas de ordeños no están perfectamente higienizadas o si no se realizan la limpieza adecuada de las ubres, por lo que la leche cruda podría convertirse en un vehículo de transmisión de patógenos. La mayoría de las infecciones por *E. coli* son endógenas, es decir, algunas células de *E. coli* que forman parte de la flora bacteriana normal del paciente son capaces de producir una infección cuando las defensas de este se encuentran alteradas, pero la mayoría de las gastroenteritis son causadas por cepas que se adquieren de forma exógena (Murray et al., 2006).

➤ Patogenia

E. coli es responsable de causar enfermedades como gastroenteritis, septicemia, meningitis, infecciones del aparato urinario por factores de virulencia especializado por formar adhesinas que son capaces de permanecer en el aparato urinario y digestivo produciendo antígenos del factor de colonización CFA/I, CFA/II y CFA/III, pero también producen exotoxinas como Shiga (Stx-1, Stx-2), las toxinas termoestables (STa, STb) y las toxinas termolábiles (LT-I y LT-II) (Murray et al., 2006). La bacteria utiliza el alimento como medio de cultivo multiplicándose, alcanzando grandes cifras aumentando la posibilidad de que el consumidor se infecte, algunas cepas de *E. coli* patógenas pueden ser invasoras y otras enterotoxigénicas (Brooks et al., 2012).

➤ Enfermedades clínicas

Los autores (Romero et al., 2009) señalan que la presencia de *E. coli* en quesos frescos, no pasteurizado están asociados a brotes de enfermedades alimentaria e intoxicaciones con mayor

frecuencia que los quesos pasteurizados que van desde síntomas pocos graves o llegando a causar diarrea, infecciones urinarias, enfermedades respiratorias, infecciones sanguíneas y que incluso pueden producir toxinas que son responsables de producir diarreas con sangre. En su mayor parte, *E. coli* no patógenos son un grupo de bacterias inofensivas que se utilizan con mayor frecuencia como organismos indicadores de contaminación fecal y constituyen parte esencial de la flora bacteriana en humanos, sin embargo, hay clones que han adquirido factores de virulencias que les han permitido adaptarse a nuevos nichos y causar enfermedades graves dentro de las cuales se incluyen seis categorías patógenas que causan gastroenteritis y afectan a los humanos: *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC; también llamada *E. coli* productora de verocitotoxina o VTEC), de la cual *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) es un subgrupo patógeno; *E. coli* enteropatógena (EPEC); *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) responsables de producir la enfermedad conocida comúnmente como diarrea del viajero; *E. coli* enteroagregativa (EAEC); *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) también responsables de producir diarrea del viajero; y *E. coli* difusamente adherente (DAEC), la mayoría producen toxinas que causan trastornos de gastroenteritis (Farrokh et al., 2013). La cepa *E. coli* Enteropatógeno (EPEC), son causantes de causar gastroenteritis con síntomas de diarrea y su transmisión es vía fecal-oral a causa de alimentos aguas o fómites actuando como vehículo de transmisión, en adultos sanos, la diarrea inducida por EPEC puede ser consecuencia con la ingesta de estas bacterias con una dosis de 10⁸ a 10¹⁰ microorganismos, siendo esta dosis infecciosa menor en niños (Croxen et al., 2013).

A continuación, se detallan la gastroenteritis producida por *E. coli* patógenas:

Microorganismo	Lugar de acción	Enfermedad	Patogenia
<i>E. coli</i> enteropatógena (ECEP)	Intestino delgado	Diarrea infantil en países subdesarrollados; diarrea acuosa y vómitos, heces no sanguinolentas	Histopatología U/B mediada por un plásmido con la alteración de la estructura normal de la microvellosidad, lo que da lugar a malabsorción y diarrea
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (ECET)	Intestino delgado	Diarrea del viajero; diarrea infantil en países subdesarrollados; diarrea acuosa, vómitos, espasmos abdominales, náuseas, febrícula	Enterotoxinas termoestables y/o termolábiles mediadas por plásmidos que estimulan la hipersecreción de líquidos y electrólitos
<i>E. coli</i> enterohemorrágica (ECEH)	Intestino grueso	Inicialmente diarrea acuosa, seguida de diarrea sanguinolenta (colitis hemorrágica) con espasmos abdominales; sin fiebre o con febrícula; puede progresar a síndrome hemolítico urémico (SHU)	Mediada por las toxinas Shiga (Stx-1, Stx-2), que interrumpen la síntesis de proteínas; lesiones U/B con la destrucción de la microvellosidad intestinal, que da lugar a disminución de la absorción
<i>E. coli</i> enteroinvasiva (ECEI)	Intestino grueso	Enfermedad en los países subdesarrollados; fiebre, espasmos, diarrea acuosa; puede progresar a disentería con escasas heces sanguinolentas	Invasión mediada por un plásmido y destrucción de las células que recubren el colon
<i>E. coli</i> enteroagregativa (ECEA)	Intestino delgado	Diarrea infantil en países subdesarrollados; diarrea del viajero; diarrea acuosa persistente con vómitos, deshidratación y febrícula	Adherencia agregativa de los bacilos mediada por un plásmido («ladrillos apilados») con acortamiento de las microvellosidades, infiltración mononuclear y hemorragia; disminución de la absorción de líquidos

Figura N°2. Gastroenteritis producida por *Escherichia coli*. Fuente: (Murray et al., 2006).

3.4.2 *Staphylococcus aureus*.

➤ Características y epidemiología

Los estafilococos son bacterias grampositivas, anaerobios facultativos y coagulasa positivos es decir que producen una enzima que coagula el plasma sanguíneo, crecen en forma esférica o de cocos, se presentan principalmente en grupos que recuerdan a racimos de uvas, se encuentran principalmente en la piel, glándulas de la piel y membranas mucosas, del hombre y otros animales de sangre caliente y son importantes patógenos responsables de intoxicaciones alimentarias debido a que produce una enterotoxina que se transmite por los alimentos (Fox et al., 2017); (Feijoó et al., 2023). Pertenecen al filo Firmicutes, clase Bacillis, orden Bacillales, familia Staphylococcaceae, género *Staphylococcus* (Castellanos et al., 2020). Aproximadamente el 30% de la población humana está colonizada por *S. aureus* presentes en las vías nasales, desde donde contaminan las manos (Wertheim et al., 2005). El género *Staphylococcus* incluye actualmente 42 especies diferentes, algunas de ellas forman parte de la flora microbiana normal de piel y mucosa en humanos y otras se encuentran sólo entre la flora de animales mamíferos y aves (Pahissa, 2009). Pueden crecer en un amplio rango de temperatura entre 6 y 48°C siendo muy resistentes al calor, pero su temperatura óptima de es de 37°C, toleran un pH entre 4 y 10 con un pH óptimo de 7 a 7.5 y resistentes a altas presiones osmóticas por lo cual pueden tolerar una concentración de sal de 0 a 20%, además produce una amplia variedad

de enterotoxinas termoestables, y no compiten bien con otros microorganismos (Zaira & Castillo, 2002); (Ahmed et al., 2019). *Staphylococcus aureus* crecen en medios con altos porcentajes de salinidad (7,5% NaCl), también son resistente a la sequedad, la radiación que les permite prosperar sobre la piel y resiste a la congelación, se inhibe a temperaturas inferiores a 5°C y no produce la toxina por debajo de 10°C, se inhiben a temperatura de cocción (> 65°C) (Castillo & Glenda, 2013). Durante el proceso de la elaboración del queso, la contaminación puede provenir de diferentes fuentes como la leche cruda proveniente de animales infectados destinados a la producción de alimentos, pueden estar presentes en fómites o biopelículas en las plantas de procesamientos, pueden presentarse en portadores humanos sanos o simplemente pueden ser el resultado de una higiene deficiente durante el proceso de producción, comercialización y almacenamiento del producto (Even et al., 2009).

➤ Patogenia

Las especies que se asocian con mayor frecuencia a enfermedades en los seres humanos son *Staphylococcus aureus* el miembro más virulento y mejor conocido del género y es la única especie colonizadora del ser humano que produce enzimas coagulasa (Murray et al., 2006). *S. aureus* es un importante patógeno transmitido por los alimentos y se debe más a la acción de las toxinas que del propio microorganismo produciendo gastroenteritis (Feijoó et al., 2023). *S. aureus* también es la causa más común de mastitis, una inflamación de la ubre, en vacas lecheras, una de las enfermedades infecciosas más importante que se produce en los rebaños de ganado lechero, causando importantes pérdidas económica siendo uno de los principales patógenos asociado con la mastitis bovina (Rabello et al., 2007). Esto no significa que deba estar inexistente en productos lácteos como el queso fresco, debido a su naturaleza del producto puede encontrarse de forma natural en la leche y otros productos lácteos frescos como el queso, aun así, si se encuentran a gran cantidad pueden ser responsables de producir enfermedades transmitidas en alimentos por lo que resulta en una gran preocupación (Vasconcelos & Ribeiro de Souza da Cunha, 2010). Es responsable de intoxicaciones alimentarias en humanos por lo que es un contaminante común de la leche y productos lácteos; se inactiva mediante pasteurización, alrededor del 50 % de los aislados procedentes de leche cruda son responsables de producir enterotoxinas (D'amico & Donnelly, 2011). Las intoxicaciones alimentarias por *S. aureus* producen una amplia gama de enfermedades como septicemia, meningitis, endocarditis,

osteomielitis y síndrome de shock tóxico (Wertheim et al., 2005). *S. aureus* produce una gran número de factores de virulencia que producen enterotoxinas que son capaces de ocasionar intoxicaciones, algunas cepas producen una o más exoproteínas adicionales, que incluyen: cinco toxinas citolíticas (alfa, beta, delta, gamma, y leucocidina de Panton-Valentine [P-V]), dos toxinas exfoliativas A y B y ocho enterotoxinas (A a E, G a I) y la toxina-1 del síndrome del shock tóxico (TSST-1) leucocidina (Dinges et al., 2000); (Murray et al., 2006); (Cadena et al., 2018).

➤ Enfermedades clínicas.

Son responsables de producir enfermedades del aparato digestivo transmitidas en alimentos a menudo se relacionan con la ingestión de alimentos contaminados por patógenos microbianos o por las toxinas que estos producen (Rios et al., 2012). Las manifestaciones clínicas de algunas enfermedades estafilocócicas se deben exclusivamente a las actividades de las toxinas ejemplo SPEE, intoxicación alimentaria, mientras que otras afecciones se deben a la proliferación que provocan abscesos y daños tisulares (Murray et al., 2006). Los síntomas de intoxicaciones alimenticias por estafilococos aparecen a las pocas horas, es decir, de 1 a 6 horas después de la ingestión de alimentos contaminados, dependiendo de la susceptibilidad individual y de la dosis tóxica ingerida puede causar náusea, calambres abdominales, diarrea y vómitos (Le Loir et al., 2003). Las intoxicaciones alimentarias se caracterizan por la aparición de vómitos, náuseas, diarrea, dolor abdominal y también se ha descrito la presencia de sudoración y cefalea, pero no de fiebre, por lo general la diarrea son acuosas y no sanguinolenta y puede ocasionar deshidratación (Murray et al., 2006). La pérdida importante de líquidos y electrolitos por la deshidratación puede causar debilidad, presión arterial muy baja y en algunos casos la intoxicación puede resultar mortal, especialmente en las personas muy jóvenes, muy mayores o debilitadas, por ejemplo, por enfermedades prolongadas (Gotfried & Katz, 2023).

Por lo general, los síntomas de la intoxicación alimentaria por estafilococos se inician de forma repentina con náuseas y vómitos intensos, alrededor de 30 minutos a 8 horas después de ingerir el alimento contaminado, también puede ocasionar retortijones abdominales, diarrea y a veces dolor de cabeza, pero si se presenta el síndrome del shock tóxico los síntomas son fiebre con hipotensión con elevada mortalidad en ausencia de tratamiento (Gotfried & Katz, 2023)

3.4.3. Hongos microscópicos filamentosos y levaduras.

El queso, debido a su composición es muy susceptible de contaminación por hongos y levaduras, el crecimiento determinado de algunos hongos puede ser de gran beneficio debido a que aportan características organolépticas deseables en la maduración como en el Roquefort, queso azul y pueden formar parte del proceso de elaboración de ciertos tipos de quesos, pero en otras ocasiones el crecimiento incontrolado de hongos en los alimentos puede ocasionar alteraciones fisicoquímicas o producción de micotoxinas (Ruiz, 2023). Los hongos filamentosos y levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, algunos desempeñan una importante función en la producción de alimentos y pueden encontrarse como microbiota natural de un alimento o como contaminante causantes de la descomposición de otros alimentos debido a la utilización en su metabolismo de los carbohidratos, ácidos grasos, proteínas y lípidos, producen metabolitos tóxicos termorresistente y produce esporas que les permite llegar a nuevos ambientes por el aire y contaminar otros alimentos, además se caracterizan por presentar un crecimiento lento y de baja competitividad, razón por la cual se manifiestan en los alimentos donde el crecimiento bacteriano es menos favorable (NOM-111-SSA1, 1994). Las condiciones necesarias para que un hongo crezca en superficie son: existencia de esporas, bases nutrientes, humedad y temperaturas entre 4 a 38°C (Pérez & Vargas, 2019). Los autores Webster & Weber en 2007, los definen de la siguiente forma: son organismos eucariotas, heterótrofos, pueden reproducirse sexual y/o asexual por medio de esporas o trozos de micelios (Vidal, 2016). Se distinguen de otros eucariotas por la presencia de una rígida pared celular formada por quitina y glucano, dependiendo de la especie estos pueden llevar una vida como saprofitos (descomponen materia orgánica muerta), comensales o parásitos obligados (Murray et al., 2006).

➤ Hongos microscópicos filamentosos.

Se utiliza el termino mohos para referirse a hongos filamentosos multicelulares y su crecimiento en la superficie en los alimentos suele ser reconocible con características en el aspecto como el color blanco, colores oscuros, color humo, forma algodonosa y sus características pueden estudiarse mediante observaciones macroscópicas y microscópicas (Frazier & Westhoff, 1994).

Los hongos crecen en la superficie de los alimentos con un aspecto aterciopelado o a veces pigmentado y su presencia en las superficies de quesos madurados proporciona un sabor, aroma único y característico para el queso, debido a las enzimas que los mohos poseen, las cuales contribuyen al proceso de maduración del queso, aunque la presencia de ciertos mohos puede ocasionar alteraciones no deseadas en el queso, lo que puede resultar en pérdidas económicas y problemas de salud para el consumidor (Hayaloglu & kirbag, 2007). Además, algunas especies de moho pueden producir metabolitos secundarios (micotoxinas), por lo que representa un riesgo para la salud del consumidor (Kure et al., 2004).

Los mohos necesitan oxígeno para la respiración celular y la multiplicación (Montanhini, 2021). Algunas especies de hongos (mohos) pueden producir micotoxinas en la leche y otros alimentos como las aflatoxinas producidas por *Aspergillus flavus* que son sustancias venenosas y pueden tener diversos efectos negativos en la salud humana que va desde intoxicación o crónico (OMS., 2023).

Entre los géneros de hongos que se encuentran comúnmente en los quesos, podemos destacar: *Aspergillus* (*A. orizae*, *A. flavus*, *A. soyae*), *Cladosporium* (*C. herbarum* y *C. cladosporoides*), *Mucor* (*M. pusillus*, *racemosus* y *rouxii*), *Penicillium* (*P. expansum*, *P. italicum*, *P. camembertii*, *P. roquefortii*), *Rhizopus* (*R. stolonifer*), *Claviceps* (*C. purpurea*) y *Fusarium*. (Montanhini, 2021). Algunos representantes de los géneros anteriores pueden producir toxinas, tales como *A. flavus* y *C. purpurea*, por otro lado, los mohos del género *Penicillium* son los que se encuentran más comúnmente en la superficie de los quesos, siendo *P. commune* el más frecuente (Montanhini, 2021).

➤ Levaduras.

Aunque las levaduras desempeñan un papel positivo en el proceso de maduración del queso, su presencia también puede contribuir a ciertas alteraciones, debido a ciertas características que les permite crecer a bajas temperaturas, fermentar la lactosa, resistir a altas concentraciones de sal y la habilidad para tolerar valores de baja actividad del agua y pH (Padilla et al., 2014); (Garrido-Lestache, 2018). Las células de levaduras son ovoides o esféricas, en forma de limón, su temperatura de crecimiento comprende entre 5 y 30 a 37°C, pero su temperatura óptima es de 25°C (Zaira & Castillo, 2002). Las levaduras más frecuentemente aisladas en quesos son:

Candida spp., *Y. lipolytica*, *K. marxianus*, *G. candidum*, *D. hansenii* y *Pichia* spp. (Montanhini, 2021). Los quesos artesanales poseen una gran variedad de especies de levaduras que pertenecen a los géneros: *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Kluyveromyces*, *Candida*, *Pichia* y *Yarrowia*, las secuencias de un fragmento del gen 26S del ADNr indicó que *Kluyveromyces marxianus* fue la especie predominante, seguida de *Saccharomyces cerevisiae*, *Clavispora lusitaniae*, *Kluyveromyces lactis* y *Galactomyces geotrichum* (Binetti et al., 2013). La contaminación de los quesos por levaduras puede ocasionar cambios sensoriales notables, especialmente debido a un olor característico desagradable, similar al de la masa fermentada o incluso a huevo podrido, causado por su actividad proteolítica (Montanhini, 2021).

4. Buenas prácticas de manufactura (BPM) en la elaboración artesanal e industrial de productos lácteos (quesos)

Las buenas prácticas de manufactura son procedimientos necesarios para lograr alimentos inocuos que se aplican a lo largo de la cadena de elaboración de alimentos, mediante un conjunto de higiene y hábitos durante la manipulación de la materia prima, equipamiento y utensilios (Soruco, 2013). La limpieza es la parte más importante de todas las operaciones que se realizan en el local que se fabrica el queso y otros productos lácteos (Juárez et al., 2011). El autor (Arango, 2023) indica que las normas deben ser aplicadas a todas las etapas en la cadena de suministro, que incluye la producción primaria, el procesamiento, envasado, almacenamiento, distribución para garantizar la inocuidad de la leche para que pueda ser apta para su consumo.

4.1 Ordeño higiénico y la utilización de animales sanos

El ordeño efectuado a manos, como el efectuado a maquinas debe realizarse de manera higiénica para obtener un producto de alta calidad a través de buenas instalaciones de ordeño, limpieza de forma controlada de las mamas, pezones, del material y equipos de ordeño, vigilancia constante del funcionamiento de las instalaciones y controlar la sanidad del rebaño mediante calendarios sanitarios de higiene general (Moreno, 1988). El empleo de sistemas de ordeño mecánicos ayuda a reducir la contaminación a partir del animal, ordeñadores, aire y suelo, pero la contaminación estará mayormente en los tanques de almacenamiento y en el sistema de ordeño (Decheco, 2006). Los animales deben recibir una buena alimentación balanceada de calidad y también

deben cumplirse con los estándares de bienestar animal, proporcionando un ambiente y condiciones adecuadas para la salud del animal (Arango, 2023).

4.2 Control de producción

Los controles de producción son esenciales para detectar contaminantes físicos, químicos y biológicos. (Soruco, 2013). Cuando se recibe la leche es importante realizar análisis sensoriales mediante la observación, olor y si es necesario probar la materia prima para determinar si se trata de un producto limpio y apto para la fabricación del queso (Juárez et al., 2011). También puede realizarse análisis de mastitis que permite saber o detectar si el animal se encuentra enfermo por mastitis bovina, causado por algunos microorganismos y prueba de acidez que puede indicar la carga microbiana de la leche, así como el cuidado en cuanto a higiene y conservación (MEFCCA, n.d.). Además, todo el material de empaque y envase debe ser de grado alimentario y almacenarse en condiciones que los protejan del polvo, plagas u otros contaminantes (Soruco, 2013).

4.3 Infraestructura de la planta procesadora

El área o la planta procesadora debe contar con acceso y alrededores libres de materiales acumulados, basura, chatarra, maleza, agua estancada u otros elementos que puedan atraer contaminantes o plagas mediante barreras anti-plagas, además, el área de procesamiento debe estar claramente separadas y señalizadas como área de recepción, procesamiento, control de materia prima, almacenamiento, entre otras para evitar posible contaminación cruzada (Soruco, 2013). Es importante barrer y trapear el piso del local donde se prepara el producto, no debe haber acumulación de polvo, contaminantes de humo o vapor (Juárez et al., 2011). Se enfatiza sobre la importancia de que las instalaciones siempre deban estar limpias y desinfectadas regularmente, los pisos, paredes, y techos deben ser fáciles de limpiar y mantener en buenas condiciones, además se deben implementar controles contra plagas para evitar contaminación en los productos lácteos (Arango, 2023).

4.4 Limpieza de equipos y utensilios de trabajos

Todo el equipo y utensilios debe estar construido y diseñado con materiales que permitan su fácil limpieza. (Soruco, 2013). Lavar las mesas donde se realizan los procesos de elaboración del queso, los utensilios y equipos de trabajo deben ser siempre lavados con agua potable y jabón para luego dejar escurrir y secarlos con mantas (Juárez et al., 2011). Los materiales no deben impregnar olores o sabores extraños al queso, deben ser resistentes a continuas operaciones de limpieza y desinfección, usos de equipos permanentes para tener un protocolo fijo de limpieza (Gonzales & Puente de la Vega, 2017).

4.5 Abastecimiento de agua

El agua utilizada para la limpieza y desinfección de equipos debe ser potable de forma continua permanente, debe cumplir de forma regulada con análisis por un laboratorio externo acreditado y pruebas microbiológicas, además de verificar niveles de cloración y pH (Gonzales & Puente de la Vega, 2017).

4.6 Personal e higiene

El personal es clave para asegurar la calidad, y seguridad de los alimentos, por lo que su estado de salud debe ser apto para la manipulación del alimento, además, es esencial que usen uniformes limpios diariamente, incluido el calzado, que se laven las manos correctamente antes de empezar a trabajar, después de ir al baño y cada vez que se manipule los materiales o ensuciado las manos, el personal también debe mantener uñas cortas, evitar el uso de cosméticos durante el trabajo, el cabello debe estar completamente recogido y se prohíbe fumar, beber y comer en el área de trabajo (Soruco, 2013). El personal de trabajo debe evitar utilizar reloj, anillos y cualquier artículo que pueda estar en contacto con el producto (Juárez et al., 2011). El personal debe ser capacitado sobre la importancia de las prácticas de higiene y el buen uso de las nuevas tecnologías implementadas en plantas procesadoras, el personal no debe introducir los dedos en la nariz, oreja, boca, rascarse alguna parte del cuerpo, también deben utilizar mascarilla, guantes, batas, mandil (Gonzales & Puente de la Vega, 2017). El autor (Arango, 2023) también indicada que es importante que los trabajadores mantengan una buena higiene

personal, que incluye el lavado de manos frecuente, usar equipo de protección personal adecuado como guantes y no fumar, comer o beber en áreas de producción.

4.7 Transporte y almacenamiento adecuado

La leche debe ser transportada y almacenada a temperatura adecuada para evitar su deterioro y contaminación (Arango, 2023).

4.8 Conservación y control de microorganismos en el queso fresco

- Empleo de calor durante la elaboración el queso

La pasteurización se ha hecho necesario desde un punto de vista sanitario, el objetivo es destruir los microorganismos patógenos de la leche que pueda transmitirse a los consumidores y mejorar su conservabilidad (Deheco, 2006). Los métodos de pasteurización destruyen los microorganismos patógenos y reduce considerablemente el resto de los otros gérmenes, modificando poco la composición de la leche, en las industrias queseras y las queserías artesanal se suele utilizar el método de pasteurización lenta a 65°C durante 30 minutos en forma discontinua, la ventaja es que no se modifica las propiedades de la leche (Moreno, 1988).

- Refrigeración y conservación de la materia prima y quesos

Si no se va a transformar la leche en queso inmediatamente es importante evitar que aumente el número de microorganismos que contiene mediante refrigeración y conservación a 4°C en un tiempo máximo de dos horas después del ordeño (Moreno, 1988). Los quesos frescos pasteurizado una vez elaborado, se enfrían inmediatamente manteniéndose refrigerado hasta que llegan al consumidor a una temperatura de 0 a 4,4 °C y se recomienda mantener refrigerada mientras permanece almacenado en la planta de tratamiento, en el camión durante su transporte y en las tiendas de ventas al por menor y durante su distribución (Frazier & Westhoff, 1994).

4.9 Requisitos microbiológicos con los que debe cumplir el queso fresco

El análisis microbiológico no tiene carácter preventivo si no que funciona para inspeccionar y así valorar la carga microbiana puesto que es un proceso analítico (Barrios, 2006). La

cuantificación de microorganismos indicadores como coliformes totales permite analizar la calidad microbiológica de los alimentos, ya que estos deben ser destruidos por tratamientos de pasteurización, térmico, químicos y su presencia puede indicar fallos en la elaboración y conservación lo cual puede generar problemas para la salud pública (Romero, 2019). La calidad higiénica se refiere a la cantidad de bacterias que está en los alimentos como la leche y productos lácteos desde el ordeño hasta la conservación y la calidad sanitaria es la cantidad de células somáticas que posee la leche y productos lácteos producto de mastitis subclínica en vacas (Gonzales & Puente de la Vega, 2017).

En Panamá existe una resolución N°589 del 5 de diciembre del 2000 que establece un reglamento técnico que tiene como objetivo establecer las definiciones y los requisitos que debe cumplir el queso fresco nacional, dada por el ministerio de comercio e industrial. (Reglamento técnico 16-377-99, 2001).

Cuadro N°2. Reglamento técnico 16-377-99, 2001.

Requisitos microbiológicos que debe cumplir el queso fresco nacional	
Coliformes fecales/g	-10
<i>Staphylococcus aureus</i> , coagulasa positiva	-100
Patógenos	Ausencia
Hongos y levaduras	-10

Fuente: Reglamento técnico (Reglamento técnico 16-377-99, 2001).

En el año 2003, en Panamá se publicó una actualización del reglamento técnico (Resolución N°361 del 1 de agosto 2003) que establece los requisitos microbiológicos que debe cumplir el queso fresco nacional, dada por el ministerio de comercio e industrial. (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003).

Cuadro N°3. Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003.

Requisitos Microbiológicos en quesos frescos	
Coliformes Totales	100 UFC/g
Coliformes fecales	3 -10 NMP/g
<i>E. coli</i>	< 3 NMP/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	-10 UFC/g
Patógenos	Ausencia

Fuente: Reglamento técnico (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003).

En Panamá también se rigen por el reglamento centroamericano para el queso fresco, el cual obedece a la necesidad de priorizar los análisis microbiológicos para el registro y la vigilancia de los alimentos por lo que se establecen límites y medidas, basándose en la probabilidad de causar daño a la salud, el reglamento técnico Centroamericano clasifica al queso fresco como un alimento tipo A que comprende los alimentos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una alta probabilidad de causar daño a la salud (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018).

Los límites permisibles máximos en subgrupos de alimentos: quesos frescos, no madurados, requesón, sus mezclas de productos lácteos con aceite o grasa vegetal comestible y similares descrito por el reglamento técnico centroamericano:

Cuadro N°4. Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018.

Parámetro	Categoría	Tipo de alimento	Límite permitido
<i>Escherichia coli</i>	6	A	10 UFC/g
<i>Staphylococcus aureus</i>	8		10 UFC/g
<i>Listeria monocytogenes</i>	10		Ausencia 25/g
<i>Salmonella ssp</i>	10		Ausencia 25/g

Fuente: (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018).

5 Técnicas de método rápido en placas Petrifilm para recuento total e identificación de indicadores de calidad microbiológica.

Esta técnica de Petrifilm minimiza el procedimiento tedioso y maximiza la productividad en el laboratorio y a su vez proporciona los resultados fáciles de interpretar basándose en normas existentes para los alimentos, son medios de cultivos listos para usarse, en formato de placas rehidratable compuesto por una película plástica, adhesivos + indicador + nutrientes específicos + gel, adhesivos y una película con cuadrículas y a su vez facilitando los resultados en tres pasos, inoculación, incubación y recuento (Petrifilm, 2015).

5.1 Placas Petrifilm para recuento rápido de *E. coli*/ coliformes

Las placas Petrifilm para recuento rápido de *E. coli*/coliformes son medio de cultivos selectivos, contiene Agar bilis rojo violeta modificado un agente gelificante en agua fría y diferencial listos para ser empleados, constituido por peptona, extracto de levadura, sales biliares, TTC, rojo neutro, cristal violeta, cloruro de sodio, agar, lactosa, 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-glucurónido un indicador de glucuronidase activity y un tetrazolium indicador que facilita la enumeración de colonias (Guide Interpretation REC 3M Petrifilm, 2017).

Interpretación de los resultados:

La United States Food and Drug Administration (FDA) Bacteriological Analytical Manual (BAM) define a los coliformes como Gram negativos con producción de ácidos y gas por la lactosa durante la fermentación metabólica por lo que el recuento en áreas de 20 cm² si hay crecimiento, las colonias *E. coli* son azules con gas y las colonias coliformes totales son rojas y azules con gas, el recuento óptimo es de 15-150 UFC (Guide Interpretation REC 3M Petrifilm, 2017).

5.2 Placas Petrifilm Staph Express para el recuento de *Staphylococcus aureus*.

Las placas Petrifilm Staph para recuento de *Staphylococcus aureus* son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene un agente gelificante soluble en agua fría, este medio modificado cromogénico Bair-Parker en la placa es selectivo y diferencial para *Staphylococcus aureus* (Guía de Interpretación Staph Express 3M Petrifilm, 2007).

Interpretación de los resultados:

Se realiza el conteo de las colonias rojo-violeta, el disco Staph Express Petrifilm se debe utilizar cuando la placa presente colonias que no sean color rojo-violeta, como por ejemplo colonias negras o azul-verdosas, este disco contiene un indicador y ácido desoxirribonucleico (DNA), *S. aureus* produce desoxirribonucleasa (DNasa) y la DNasa reacciona con el indicador para formar zonas rosadas (Guía de Interpretación Staph Express 3M Petrifilm, 2007).

5.3 Placas Petrifilm para el recuento rápido de hongos y levaduras

Las placas Petrifilm Staph para recuento de hongos y levaduras son un medio de cultivo listo para ser empleado, que contiene nutrientes agar Saboraud, constituido por peptona, glucosa, cloranfenicol, gentamicina, BCIP (indicador de fosfatasa) (Guide Interpretation RYM 3M Petrifilm, 2017).

Interpretación de los resultados:

Las colonias de levaduras son colonias pequeñas, bordes definidos, abultadas, color rosado a verde-azul, por otro lado, las colonias de mohos son colonias grandes, aplanadas, bordes difusos, centro oscuro, de color azul-verde variables tras una incubación prolongada y el recuento óptimo es de 15-150 UFC (Guide Interpretation RYM 3M Petrifilm, 2017).

CAPÍTULO II
METODOLOGÍA

1. Trabajo de campo

1.1 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la ciudad de Panamá, las muestras de queso industrial fueron obtenidas de un supermercado de la localidad y el queso artesanal fue comprado en un puesto de venta dentro de un mercado de alimentos frescos, ambos lugares ubicados en el corregimiento de Calidonia, distrito de Panamá, provincia de Panamá (8°58'04"N 79°32'12"W). Las muestras fueron transportadas para su análisis microbiológico en los laboratorios de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología; Depto. de Microbiología y Parasitología del campus central de la Universidad de Panamá.

1.2 Diseño experimental

1.2.1 Selección de las muestras

Los tipos de quesos recolectados son quesos blancos, blandos, con sal, prensados, elaborados con leche de vaca y de 200 g aproximadamente. Se realizaron un total de cinco muestreos, un muestreo por semana, entre los meses de febrero y marzo del 2024, obteniendo así un total de diez muestras, cinco muestras de queso blancos industrial de una misma marca que fue elegida al azar mediante un sorteo, pero cada muestra con diferentes números de lotes y fechas de vencimiento y cinco muestras de quesos artesanal recolectado del mismo lugar de venta para su análisis microbiológico. Las muestras fueron elegidas y tomadas con base en el reglamento técnico centroamericano (RTCA), en el cual se indica la categoría de alimentos para los que se establecen los límites permisibles para coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras (RTCA 67.04.70:14, 2016).

1.2.2 Toma de muestras.

Para la toma de muestras de quesos artesanal e industrial, se implementaron las medidas higiénicas adecuadas para evitar la contaminación durante la recolección y traslado de las muestras hacía el laboratorio para su análisis, las muestras se tomaron de manera cuidadosas, recolectando una muestra de queso artesanal del mismo lugar de venta y otra de queso industrial del mismo supermercado. Cada muestra fue colocada individualmente en bolsas ziploc rotuladas con el número de lote, fecha de la recolección, lugar de la colecta donde fueron adquiridas para

garantizar la validez de los resultados. Los datos del proceso de toma de muestra fueron anotados en una bitácora de campo, allí se colocó la información de temperatura de transporte (para garantizar que las muestras mantuvieran la cadena de frío hasta la llegada al laboratorio), tiempo de transporte, fecha, hora de la toma de muestra (para monitorear el tiempo transcurrido entre la recolección y la llegada de la muestra al laboratorio para su análisis microbiológico), coordenadas de los sitios de venta del producto, código del lote del producto y condiciones de almacenamiento y distribución al consumidor. Los datos tomados fueron recopilados en forma de cuadros y colocadas en la sección de anexos de datos de toma de muestras de quesos artesanal e industrial (Anexos A).

Para garantizar las condiciones óptimas durante el traslado de las bolsas ziploc con las muestras fueron colocadas en un recipiente de plástico de forma y tamaño adecuado, para evitar que los quesos entraran en contacto con el hielo de la nevera portátil, donde fueron almacenadas para su transporte al laboratorio. Se monitoreo constantemente la temperatura durante el transporte utilizando un termómetro de mercurio. Se siguieron los procedimientos de muestreo sugeridos por la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 1529-2, 1999); (NTE INEN 4, 2013). Las muestras fueron transportadas hacia el laboratorio de la Escuela de Biología, Depto. de Microbiología y Parasitología de la Universidad de Panamá.

Etiquetado e identificación de las muestras de quesos:

-Código de muestra

-Fecha de toma/envió

-Lugar de muestreo

-Hora de la toma y llegada de la muestra.

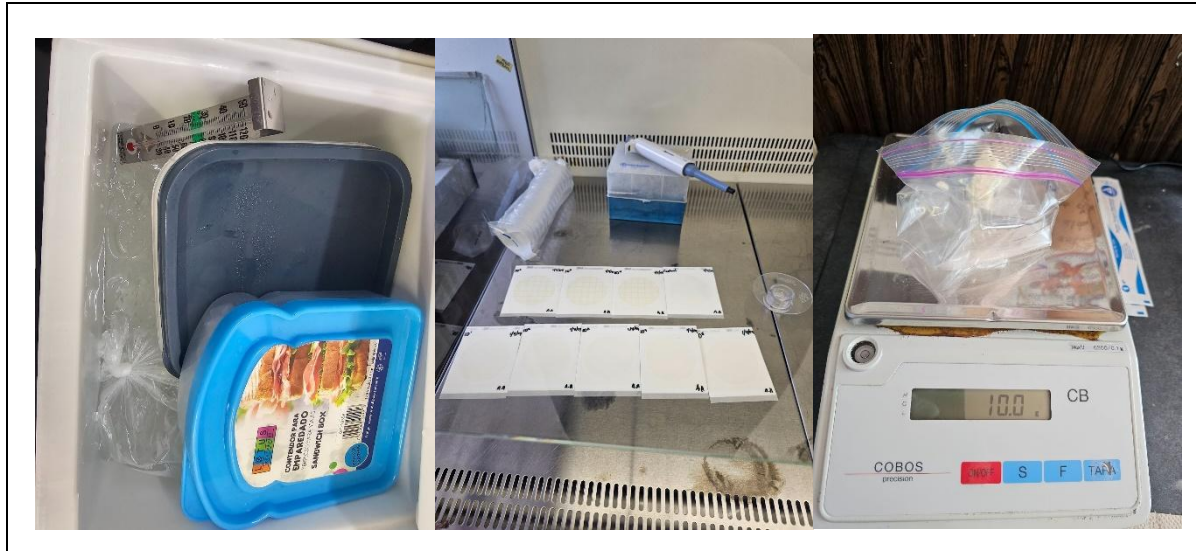


Figura N°3. Transporte, rotulado y pesado de la muestra

2. Trabajo en el Laboratorio

2.1 Análisis microbiológico

2.1.1 Preparación del medio de cultivo: Buffered Peptone Water 0.1%

El medio se preparó en base a la recomendación del fabricante (25,5 g soluble en 1 L de agua destilada). Para la preparación se pesó 11.4 g del medio y se utilizó para la mezcla un matraz con una capacidad de 1000 mL al cual se le agregó 450 mL de agua destilada, con la ayuda de una probeta de 100 mL. Una vez homogenizada la mezcla, se pasó 90 mL a 3 matraces con capacidad de 200 mL cada uno y con la ayuda de una pipeta se agregó 9 mL de la mezcla Buffer Peptone Water en 20 tubos. Luego se esterilizó en autoclave por unos 15 minutos a 121°C. El medio preparado presenta un color claro-amarillento y con un pH en un rango de 6.8-7.2 a 25°C.

➤ Modo de acción del Buffer Peptone Water 0.1%

El caldo contiene muchos nutrientes y tiene altas tasas de reanimación para las lesiones bacterianas de los cambios de pH en el medio. La digestión enzimática de la caseína, incluida la peptona, proporciona nitrógeno, carbono, vitaminas, y minerales mientras que el cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico.

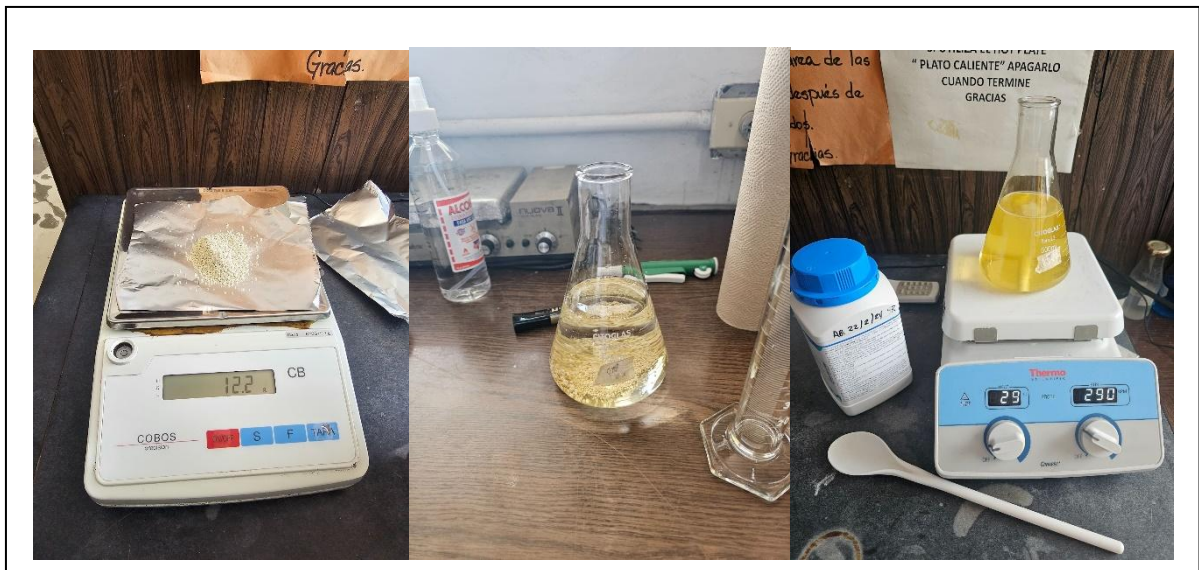


Figura N°4. Preparación del Buffer Peptone Water 0.1%



Figura N°5. Proceso de esterilización de medio de cultivo

2.1.2 Preparación de las muestras para el análisis microbiológico.

Para el análisis microbiano se siguieron los protocolos de higiene. Estos incluyeron el lavado de manos con agua potable y jabón líquido antes de iniciar los análisis y la utilización de los materiales de bioseguridad de laboratorio, como guantes estériles, batas de laboratorio, gorros, mascarillas todos de material desechable, también se procedió a retirar cualquier tipo de prenda como anillos, reloj, pulseras, entre otros, para prevenir cualquier riesgo de contaminación durante el análisis. Así mismo se realizó la desinfección de las mesas, equipos de trabajo y la

cámara de flujo laminar con alcohol 70 % además, se encendió la luz ultravioleta por 20 minutos para una desinfección profunda de la cámara de flujo laminar. Luego se realizó el rotulado de las placas Petrifilm (3M) y tubos de ensayos preparados previamente siguiendo los protocolos de higiene, para realizar las diluciones seriadas. Iniciamos el análisis tomando porciones de diferentes partes del queso hasta completar 10 g, este proceso lo realizamos ayudados de un depresor estéril. Los 10 g del queso fueron colocados en una bolsa ziploc a la cual agregamos 90 mL de diluyente buffer (Buffered Peptone Water estéril): agua peptona al 0.1% preparada con agua destilada, para luego pasar a mezclar y homogenizar con las manos aplicando un leve masaje sobre la bolsa ziploc por unos 2 minutos, así obtuvimos la primera dilución 10^{-1} . A partir de esta muestra inicial 10^{-1} se efectuaron diluciones en serie hasta la dilución 10^{-6} en tubos de ensayos con 9 mL Buffered Peptone Water 0.1% estéril. Las diluciones fueron efectuadas según la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN 1529-2, 1999).

2.1.3 Preparación de las diluciones seriadas.

Se realizaron diluciones decimales hasta una concentración 10^{-6} . De la muestra inicial homogenizada 10^{-1} se realizaron diluciones sucesivas, se tomó con una micropipeta de 1 mL y punta estéril una alícuota de 1 mL de la muestra homogeneizada la cual fue depositada en un tubo de ensayo de 9 mL con agua peptona estéril, para así obtener una dilución 10^{-2} . Repitiendo este proceso con una nueva punta se mezcló 3 veces tratando de mezclar el líquido del tubo y se transfirió una alícuota de 1 mL del tubo de ensayo 10^{-2} a otro tubo con 9 mL de agua peptona estéril para obtener una dilución 10^{-3} . Este mismo procedimiento se repitió para seguir diluyendo hasta obtener una concentración 10^{-6} (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}). Para el análisis de coliformes totales/*E. coli*, *S. aureus*, hongos y levaduras, se utilizó la técnica de placas de Petrifilm. Se trabajó con la dilución establecidas previamente en un ensayo preliminar para determinar la carga microbiana, de acuerdo con lo recomendado para el recuento en placas Petrifilm, con un rango de 15 a 150 colonias. Estas preparaciones se realizaron de acuerdo con las normas (NTE INEN 1529-2, 1999); (ISO 6887-1, 2002).

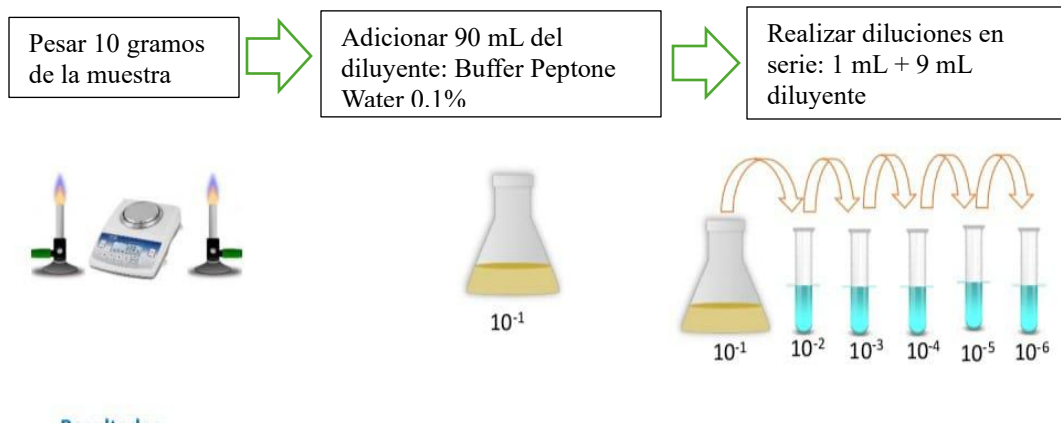


Figura N°6. Esquema para la preparación de las diluciones seriadas. Fuente: 3M Health Care Academy

2.1.4 Aplicación de la inoculación e incubación en las tres diferentes placas Petrifilm (3M)

A. Procedimiento para la preparación de inoculación general de las muestras en tres diferentes placas Petrifilm (3M)

Para la inoculación de las muestras en las placas Petrifilm previamente rotuladas, se aseguró que las placas estuvieran niveladas y en una superficie plana dentro de la cámara de flujo laminar. Se seleccionaron las diluciones para la inoculación en las placas Petrifilm, basándose en la carga microbiana referente a los mejores conteos obtenidos para cada microorganismo en un ensayo preliminar:

- Placas Petrifilm (3M) para el recuento rápido de *E. coli*/coliformes totales: Se sembró 1 mL en las diluciones (10^2 , 10^3 , 10^4) en el queso industrial y en las diluciones (10^1 , 10^2 , 10^3) en el queso artesanal con réplicas por triplicado.
- Placas Petrifilm (3M) para el recuento de Staph Express *S. aureus*: Se sembró 1 mL en la dilución (10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6) con réplicas por triplicado en ambos tipos de quesos. Para la verificar las colonias presentes que no eran de color rojo-violeta se hizo la utilización de los discos Staph Express Petrifilm de confirmación. Se utilizó un disco por placa individual, se levantó la película superior de la placa Petrifilm y se colocó el disco en la cavidad de la placa para luego bajar la película superior y se aplicó una presión al área

del disco. Por último, se llevó a incubar las placas por 1-3 horas a 35°C (Carver et al., 2003); (AOAC Método Oficial 2003.08, 2005).

- Placas Petrifilm (3M) para el recuento rápido de hongos y levaduras: Se sembró 1 mL en la dilución (10^2 , 10^3 , 10^4) en el queso industrial y en las diluciones (10^1 , 10^2 , 10^3) en el queso artesanal con réplicas por triplicado.

De manera general, durante la inoculación de las placas se procedió a levantar la película superior evitando tocar el interior de la película con los guantes y con la micropipeta de forma perpendicular, se tomó de la muestra inicial homogenizada 10^{-1} una alícuota de 1 mL de la muestra para agregarlo en el centro de la placa Petrifilm correspondiente para cada microorganismo y se deslizó de manera cuidadosa la película superior hacia abajo evitando que se formaran burbujas de aire. De manera inmediata se aplicó suavemente una presión con el difusor para esparcir y distribuir el inóculo, de esta manera se obtuvo el primer inóculo en la placa con la dilución 10^1 en replicas por triplicado y así sucesivamente para la inoculación en las demás diluciones. Figura N°7 (Interpretation Guide 3M Petrifilm, 2018), (Guía de Interpretación 3M Petrifilm, 2007), (Interpretation Guide 3M Petrifilm, 2017).

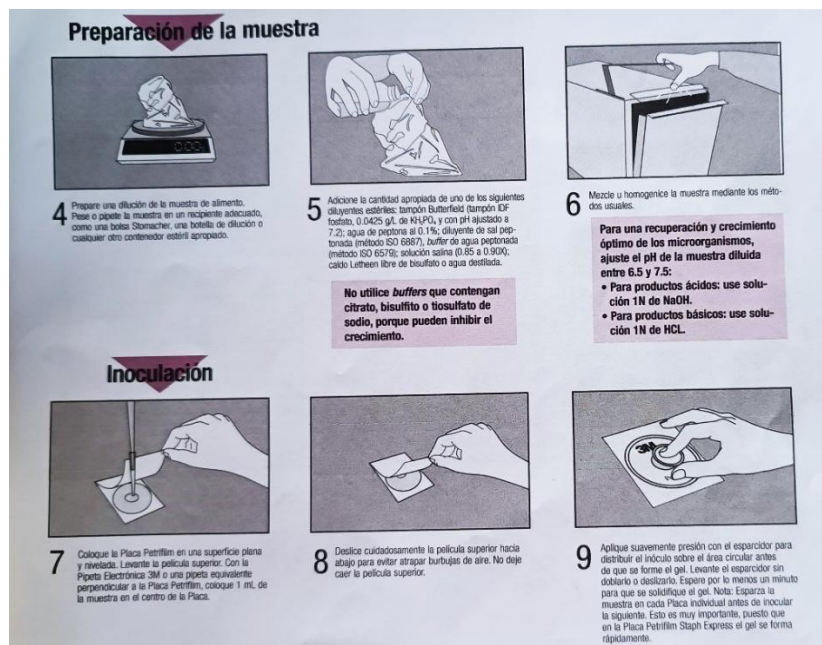


Figura N°7. Esquema utilizado para la preparación de las muestras e inoculación en placas Petrifilm 3M. Fuente: (Guía de Interpretación Staph Express 3M Petrifilm, 2007); (Interpretation Guide 3M Petrifilm, 2017).

B. Incubación de las tres diferentes placas Petrifilm (3M). (Cuadro N°5)

Cuadro N°5. Incubación de las placas Petrifilm (3M)

Placas Petrifilm (3M)	Temperatura (°C) de Incubación	Tiempo de Incubación (horas)
Recuento rápido de <i>E. coli</i> /coliformes.	35± 1°C	24 horas para los coliformes y 48 horas para las <i>E. coli</i>
Staph Express para el recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> .	35± 1°C	24 horas. Para discos Staph Express Petrifilm de confirmación 1-3 horas
Recuento rápido de hongos y levaduras	25°C	48 horas para levaduras y 60 horas para hongos

Fuente: (AOAC Método Oficial 991.14, 2002); (AOAC Método Oficial 2003.08, 2005).

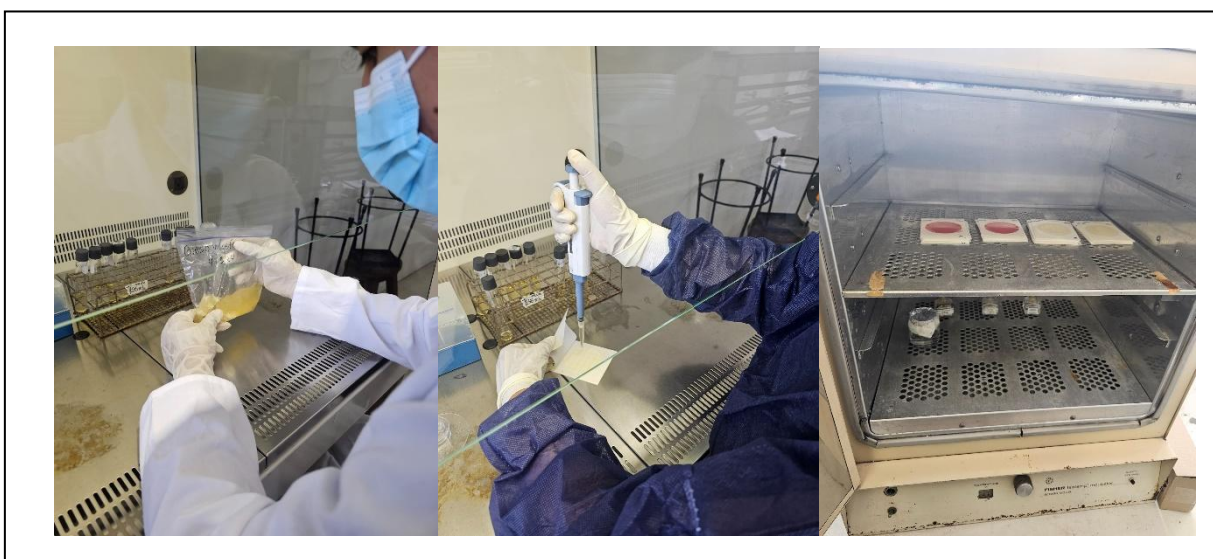


Figura N°8. Preparación de las diluciones y sembrado de la muestra

2.2 Lectura de los resultados

Después del tiempo de incubación, se seleccionaron las placas rotuladas con su respectiva dilución, que contenía entre 15 y 150 colonias aisladas, según el rango de recuento recomendado en placas Petrifilm (3M). Estas se utilizaron para el análisis y la comparación de los valores con los reglamentos técnicos de seguridad alimentaria para el queso. El recuento se realizó con la ayuda de un contador de colonias para contar las colonias visibles en los tres tipos de placas Petrifilm. Los valores fueron convertidos y expresados en unidades formadoras de colonias (UFC/mL) para cada microorganismo estudiado.

- Se realizó el recuento de las réplicas y se seleccionó la dilución dentro del rango de conteo recomendado (15-150 colonias) para las placas Petrifilm de *E. coli*/coliformes. Se realizó el recuento de las colonias de coloración rojas y azules con formación de gas las cuales indicaban presencia de coliformes totales y el recuento de las colonias de *E. coli* de coloración azules con formación de gas las cuales indicaban presencia de esta bacteria.

- Se realizó el recuento de las réplicas y se seleccionó la dilución dentro del rango de conteo recomendado (15-150 colonias) para las placas Petrifilm Staph Express de *Staphylococcus aureus*. Se realizó el conteo de las colonias de color rojo violeta y con el disco de 3M Petrifilm las colonias con zonas color rosa.

- Se realizó el recuento de las réplicas y se seleccionó la dilución dentro del rango de conteo recomendado (15-150 colonias) para las placas Petrifilm de hongos y levaduras. Se realizó el conteo de los hongos con la determinación de características de colonias grandes con bordes difusos de color azul verde y con centro oscuro con bordes difusos y el recuento de las levaduras con las características de colonias pequeñas, con bordes definidos, color de rosado a verde azulado con colonias con apariencia elevada y un color uniforme.

Una vez realizado el conteo y seleccionadas las placas se calculó el promedio del recuento en base a 3 réplicas para calcular las UFC/mL para cada microorganismo:

- **Cálculo utilizado:** $\text{UFC/mL} = (\text{N}^\circ \text{ de colonias contadas} \times \text{factor de dilución}) / \text{volumen de siembra}$.

3 Análisis estadístico

En este trabajo los datos fueron analizados mediante Excel y el programa de software (past4) para realizar un análisis estadístico comparativo y descriptivo entre muestras de quesos industrial y artesanal para establecer si existían diferencias en el número de las colonias entre los recuentos de microorganismos de los dos tipos de queso estudiados.

Se realizó una prueba de comparación de dos muestras mediante pruebas de normalidad de datos para establecer si se utilizaba una prueba t de Student o una prueba de Mann Whitney. Se realizó una prueba de normalidad y los datos obtenidos demostraron que la hipótesis se rechaza (las variables no siguieron una distribución normal) ($p = < 0.05$). Por lo tanto, se realizó una prueba no paramétrica Mann Whitney utilizando el programa de software (past4) para calcular las diferencias en el número de las colonias de los coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras entre los dos tipos de quesos estudiados.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Análisis de la evaluación de los indicadores de calidad microbiológica en el queso fresco artesanal e industrial

Los análisis microbiológicos mediante el recuento y la identificación de posibles microorganismos presentes en los alimentos son esenciales para garantizar la calidad y seguridad para su consumo mediante el cumplimiento con las normas que establecen los requisitos microbiológicos en el queso fresco. La presencia de microorganismos contaminantes en el queso depende de la calidad y el tratamiento térmico de la leche, de la limpieza en los utensilios y el cumplimiento de las medidas higiénicas en cada una de las etapas durante el proceso de elaboración y almacenamiento del producto (Sánchez-Valdés et al., 2016).

1.1 Recuento de coliformes totales en quesos frescos artesanal e industrial

a. Análisis de la evaluación cuantitativa de la carga microbiana de coliformes totales

Cuadro N°6. Recuento de coliformes totales en quesos fresco artesanal e industrial.

Coliformes totales					
Tipo de queso	N° de Muestras	Dilución en el rango de recuento recomendado <150	Recuento de colonias promedio en base a 3 réplicas	Resultados UFC/mL	Valor estándar de referencia
Industrial	1	10^3	69.33×10^3	6.9×10^4	100 UFC/g (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003).
	2	10^4	114.33×10^4	1.1×10^6	
	3	10^2	19.67×10^2	1.9×10^3	
	4	10^2	85.33×10^2	8.5×10^3	
	5	10^2	65.66×10^2	6.5×10^3	
Artesanal	1	10^2	21.67×10^2	2.1×10^3	
	2	10^3	18.67×10^3	1.8×10^4	
	3	10^3	171×10^3	1.7×10^5	
	4	10^2	34.66×10^2	3.4×10^3	
	5	10^2	137.33×10^2	1.3×10^4	

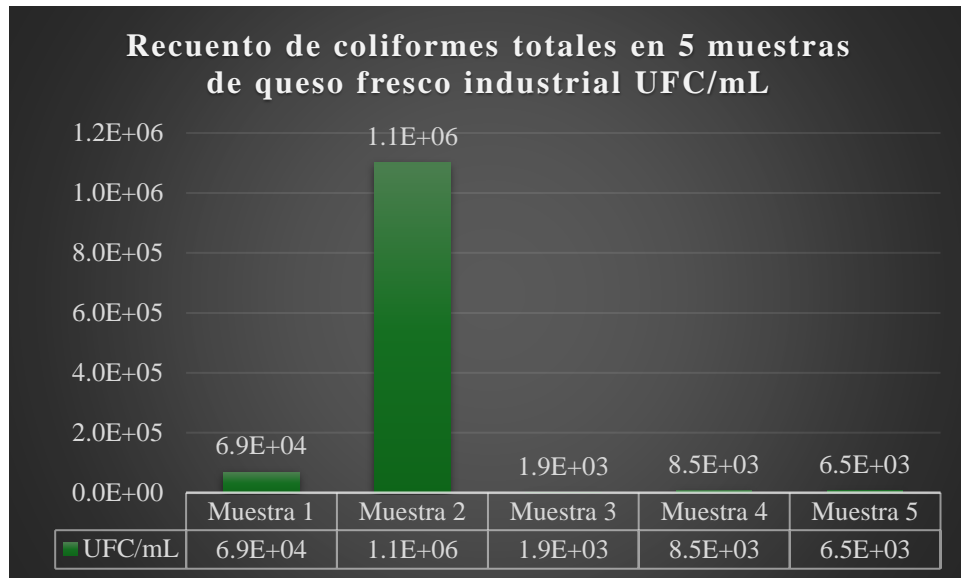


Figura N°9. Recuento de coliformes totales en 5 muestras de queso fresco industrial UFC/mL

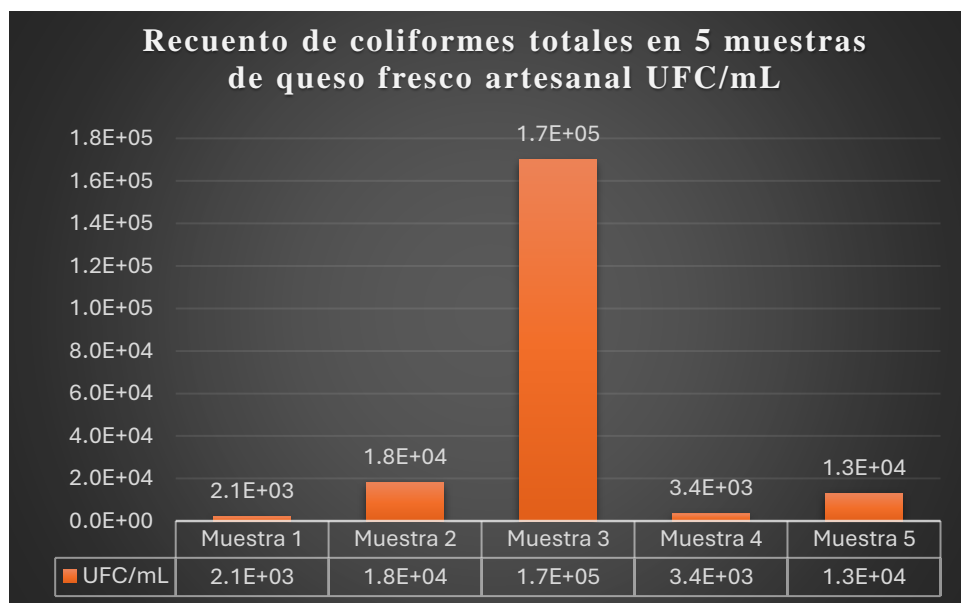


Figura N°10. Recuento de coliformes totales en 5 muestras queso fresco artesanal UFC/mL.

En el cuadro N°6, los resultados de los recuentos de coliformes totales en el queso fresco industrial reflejan que las cinco muestras con distintos tipos de lotes: 1, 2, 3, 4 y 5, mostraron la presencia de bacterias coliformes totales capaces de crecer y formar colonias visibles en cada muestra con recuento a niveles mayores a 10^3 UFC/mL en comparación con los valores estándar de referencia panameño 10^2 UFC/mL.

En la figura N°9, se puede observar que la muestra 2 presentó un valor más alto de carga microbiana de coliformes totales con un recuento promedio de colonias de 114.33×10^4 y (1.1×10^6 UFC/mL) reportada en la dilución 10^4 en comparación con el resto de las muestras, la muestra 3 presentó un valor más bajo de carga microbiana de coliformes con un recuento promedio de colonias de 19.67×10^2 y (1.9×10^3 UFC/mL) reportada en la dilución 10^2 .

En el queso artesanal, las cinco muestras: 1, 2, 3, 4, y 5 presentaron crecimiento de bacterias de coliformes totales capaces de crecer y formar colonias visibles y con recuentos con niveles mayores a 10^3 UFC/mL en comparación con los valores estándar de referencia panameños 10^2 UFC/mL, ver cuadro N°6.

En la figura N°10, se puede observar que la muestra 3 presentó una carga microbiana más alta de coliformes, con un recuento promedio de colonias de 171×10^3 y (1.7×10^5 UFC/mL) reportado en la dilución 10^3 en comparación con el resto de las muestras, mientras que la muestra 1 presentó una carga microbiana de coliformes un poco más baja con un recuento promedio de colonias de 21.67×10^2 y (2.1×10^3 UFC/mL) reportada en la dilución 10^2 .

b. Análisis estadísticos para establecer diferencias en el número de coliformes totales en el recuento de las colonias de las cinco muestras de queso artesanal y las cinco muestras de queso industrial

Para el análisis estadístico, se seleccionaron las diluciones dentro o cerca del rango de recuento recomendado (15-150 colonias) para las placas Petrifilm de coliformes totales/*E. coli*, que corresponde a las diluciones 10^2 y 10^3 en ambos tipos de quesos:

Análisis para establecer diferencias en el número de coliformes totales en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^2 de las cinco muestras de queso artesanal y de las cinco muestras de queso industrial, según la prueba U de Mann Whitney, mediante el programa de Software Past4.

Cuadro N°7. Prueba U: Mann Whitney para coliformes totales en la dilución 10².

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Q. Industrial	Q. Artesanal		
N:	5	N:	5
Mean rank:	2.5	Mean rank:	3
Mann-Whitn U :	10		
z :	0.41779	p (same med.):	0.6761
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	0.6867	
Exact permutation:	p (same med.):	0.69048	

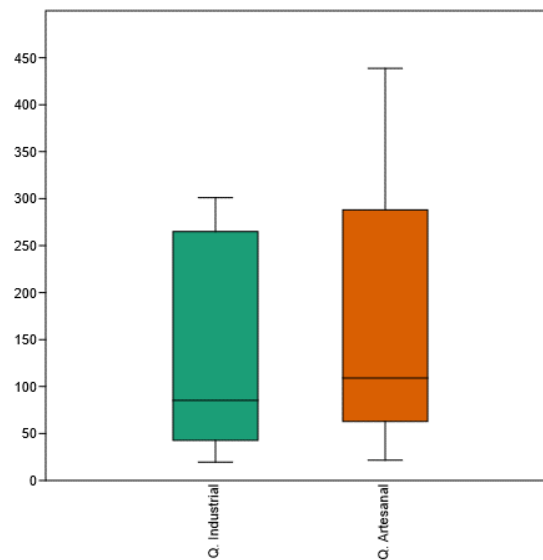


Figura N°11. Análisis de la mediana para establecer diferencias en el número de coliformes totales en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10²

Análisis para establecer diferencias en el número de coliformes totales en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^3 de las 5 muestras de queso artesanal y de las 5 muestras de queso industrial, según la prueba U de Mann Whitney, mediante el programa de Software Past4.

Cuadro N°8. Prueba U: Mann Whitney para coliformes totales en la dilución 10^3 .

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Queso industrial	Queso artesanal		
N:	5	N:	5
Mean rank:	3	Mean rank:	2.5
Mann-Whitn U :	10		
z :	0.41779	p (same med.):	0.6761
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	0.6928	
Exact permutation:	p (same med.):	0.69048	

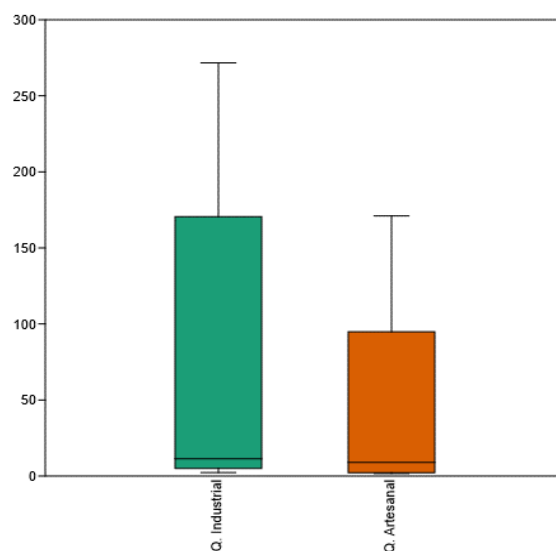


Figura N°12. Análisis de la mediana para establecer diferencias en el número de coliformes totales en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^3 .

En los cuadros N°7 y N°8. Los resultados de las pruebas de U de Mann Whitney obtenidos indican que no existen diferencias en el número de coliformes totales en la dilución 10^2 ($U=10$; $p= 0.68$; $g=5$), y en la dilución 10^3 ($U= 10$; $p= 0.69$; $g=5$) con referencia al promedio del recuento de las colonias de coliformes totales en el queso industrial y artesanal. Esto sugiere que ambos tipos de quesos tuvieron una carga microbiana muy similar en cuanto a la contaminación por coliformes totales.

En la figura N°11, se puede observar que el queso artesanal presenta una mediana de 109 del recuento de colonias del promedio en la dilución 10^2 y el queso industrial una mediana de 85.3, estos resultados indican una tendencia hacia un mayor crecimiento de coliformes totales en el queso artesanal. Sin embargo, en la figura N°12, el queso industrial presentaba una mediana de 11.3 del recuento de colonias del promedio en la dilución 10^3 , en comparación al queso artesanal que tuvo una mediana de 9, lo cual sugiere que en una dilución más alta el queso industrial tuvo mayor crecimiento de coliformes totales.

c. Comparación de los resultados obtenidos con los estándares existentes microbiológicos de inocuidad y límites permisivos para coliformes totales:

En el cuadro N°6. Los valores reportados en las cinco muestras del queso fresco industrial variaron entre 1.9×10^3 UFC/mL a 1.1×10^6 UFC/mL, valores que son muy superiores a los valores establecidos por el (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003) para el queso fresco, el cual indica que el límite aceptable es 100 UFC/g. Al comparar estos valores los resultados obtenidos en el queso fresco industrial indican que las muestras 1, 2, 3, 4 y 5 estuvieron por encima de los valores estándar aceptables que establece el (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003). En el queso artesanal los valores variaron entre 2.1×10^3 UFC/mL a 1.7×10^5 UFC/mL reportados de las muestras 1, 2, 3, 4 y 5. Estos valores también estuvieron por encima de los valores estándar aceptables que establece el (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003), correspondiente a 100 UFC/g.

Los resultados obtenidos nos indican que todas las muestras de queso tanto industrial como artesanal presentaron recuentos elevados de UFC/mL de coliformes totales, superando los valores estándar de referencia. La presencia de bacterias coliformes totales puede ser un indicativo de posible contaminación fecal por parte de bacterias patógenas lo que puede sugerir

la posible presencia de *E. coli*, *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* que pueden causar brotes de enfermedades transmitidas en los alimentos causando efectos negativos en la salud de los consumidores (Merchán et al., 2019).

Estos resultados sugieren que los ambientes en donde se elaboran este producto no reúnen las condiciones sanitarias mínimas y que adicionalmente existe la posibilidad de que se esté trabajando con leche no pasteurizada, por lo que se sospecha de posible utilización de leche cruda para elaborar los quesos tanto artesanal como industrial. Los resultados obtenidos en las muestras de queso fueron casi similares a los resultados obtenidos por (Vásquez et al., 2018) en muestras de quesos frescos industriales donde tomaron 30 muestras de queso de seis empresas teniendo como resultados una variación significativas entre las muestras de quesos entre las seis empresas de los cuales cuatro empresas (A,B,C y D) obtuvieron promedio de coliformes totales que no cumplían con las normas establecidas debido a que tuvieron recuentos hasta 10^4 NMP/g lo cual puede estar relacionado con la utilización de leche cruda o sin pasteurizar, el mal manejo de almacenamiento de la leche para la elaboración del queso o la contaminación por la excesiva manipulación al que se ve sometida el producto para su venta.

La concentración de coliformes que exceden las 100 UFC/mL a menudo son indicativos de práctica de producción antihigiénicas (Walstra et al., 2005). La presencia de bacterias coliformes totales en la leche puede ocurrir por una contaminación durante el ordeño, esta puede deberse a que la ubre y pezones de la vaca puede estar en contacto directo con bacterias coliformes que estén en el ambiente (corral, potreros) que suelen ensuciarse por la presencia de heces de las propias vacas u otros animales, desperdicio de animales, lodo, orina y agua residual (Reyes et al., 2016). Además, el uso de equipos para el ordeño, agua no potable utilizada para lavar los equipos de ordeño y mala higiene del manipulador a cargo del ordeño influyen a la contaminación fecal por parte de este microorganismo en la leche (Zamorán, 2012). Los autores (Rodríguez et al., 2009) mencionan que la presencia de coliformes en los alimentos puede ser un indicativo de contaminación fecal, pero la presencia de coliformes no siempre ocurre por una contaminación fecal directa en la leche, esta también puede ocurrir por una contaminación post-proceso térmicos. Los autores (Bintsis & Angelidis, 2008) mencionan que los productos elaborados a partir de leche pasteurizadas pueden contaminarse por coliformes totales después de la pasteurización por una mala higiene durante el manejo por parte de los trabajadores y por

equipos y utensilios de trabajo sin una correcta desinfección. Otros posibles factores de contaminación pueden asociarse a condiciones inadecuadas durante el transporte y almacenamiento de la leche para la posterior elaboración del queso fresco, como variaciones de humedad y temperatura que favorecen el crecimiento. (Walstra et al., 2005). Nosotros sospechamos de contaminación cruzada en el queso artesanal debido a la manipulación excesiva por parte del vendedor que dispensaba el producto sin la utilización de guantes durante su venta. También se sospecha la posible contaminación cruzada con otros patógenos, debido a que utilizaban el mismo cuchillo para realizar cortes múltiples veces para dividir el queso sin higienizarlo entre otros productos que se vendían en el lugar.

1.2 Recuento de *Escherichia coli* en quesos frescos artesanal e industrial

a. Análisis de la evaluación cuantitativa de la carga microbiana de *Escherichia coli*.

Cuadro N°9. Recuento de *Escherichia coli* en quesos fresco artesanal e industrial.

<i>Escherichia coli.</i>					
Tipo de queso	N° de Muestras	Dilución en el rango de recuento recomendado <150	Recuento de colonias promedio en base a 3 réplicas	UFC/mL	Valor estándar de referencia
Industrial	1	10^3	59.33×10^3	5.9×10^4	10 UFC/mL (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018). < 3 NMP/g (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003).
	2	10^2	0	0	
	3	10^2	55.67×10^2	5.5×10^3	
	4	10^2	12.67×10^2	1.3×10^3	
	5	10^2	1×10^2	1.0×10^2	
Artesanal	1	10^1	0	0	
	2	10^1	62.33×10^1	6.2×10^2	
	3	10^1	88.33×10^1	8.8×10^2	
	4	10^3	31×10^3	3.1×10^4	
	5	10^2	44×10^2	4.4×10^3	

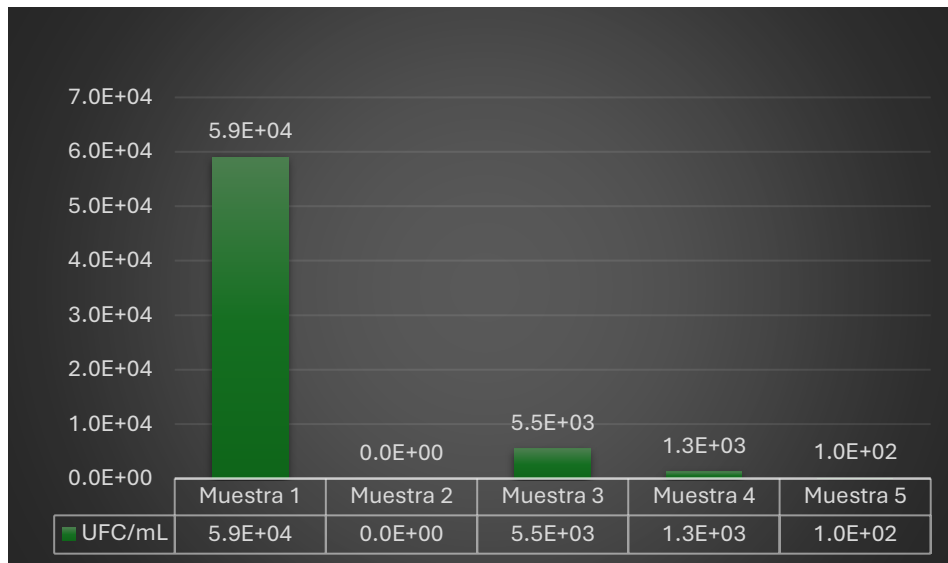


Figura N°13. Recuento de *E. coli* en 5 muestras de queso fresco industrial UFC/mL.

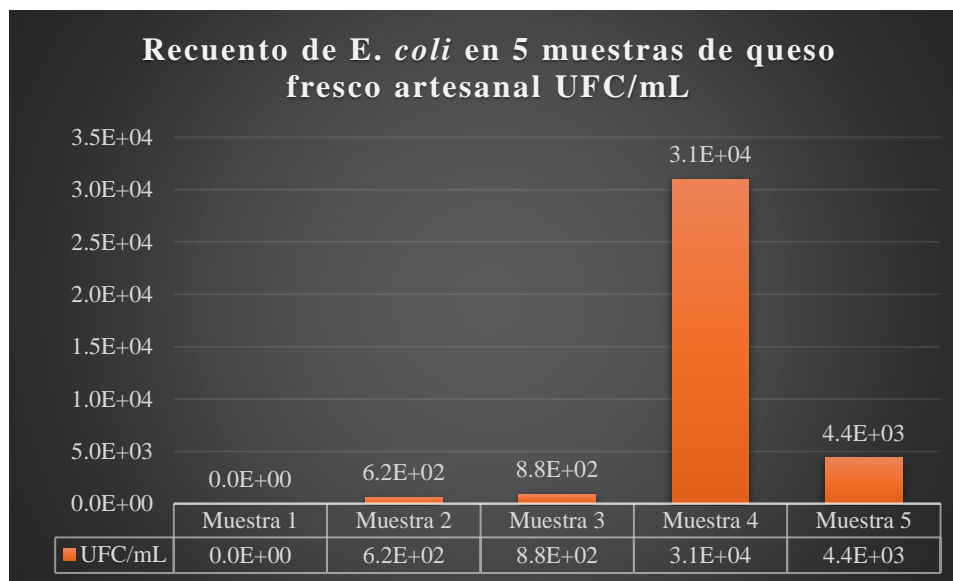


Figura N°14. Recuento de *E. coli* en 5 muestras de queso fresco artesanal UFC/mL.

En el cuadro N°9, los resultados de los recuentos en el queso fresco industrial reflejan que las muestras: 1, 3, 4 y 5 presentaron crecimiento de bacterias *E. coli* capaces de crecer y formar colonias visibles en cada muestra. Excepto la muestra 2 la cual no se evidencio

crecimiento de colonias de *E. coli* en ninguna de las diluciones seleccionadas para la inoculación en las placas Petrifilm, resultando con un recuento promedio de 0.

En la figura N°13, se puede observar que de las 4 muestras con presencia de *E. coli*, la muestra 1 presentó una carga microbiana más alta con un recuento promedio de colonias de 59.33×10^3 y (5.9×10^4 UFC/mL) reportada en la dilución 10^3 en comparación con el resto de las muestras, mientras que la muestra 5 presentó un valor más bajo de carga microbiana con un recuento promedio de colonias de 1×10^2 y (1.0×10^2 UFC/mL) reportada en la dilución 10^2

En el queso artesanal, las muestras 2, 3, 4 y 5 presentaron crecimiento de *E. coli* capaces de crecer y formar colonias visibles con recuentos a niveles mayores de 10^2 UFC/mL, en comparación al valor de referencia estándar 10^1 . En cambio, la muestra 1 no se evidenció crecimiento de colonias de *E. coli*, en ninguna de las diluciones seleccionadas para la inoculación en las placas Petrifilm, resultando en un recuento promedio de 0.

En la figura N°14, se puede observar que de las 4 muestras con presencia de *E. coli*, la muestra 4 presentó un valor más alto de carga microbiana con un recuento promedio de 31×10^3 y (3.1×10^4 UFC/mL) reportada en la dilución 10^3 en comparación con las demás muestras, mientras que la muestra 2 presentó un valor más bajo de carga microbiana con un recuento promedio de 62.33×10^1 y (6.2×10^2 UFC/mL), ver cuadro N°9.

b. Análisis estadísticos para establecer diferencias en el número de *Escherichia coli* de las cinco muestras de queso artesanal y las cinco muestras de queso industrial, se muestran en los siguientes cuadros y figuras:

Para el análisis estadístico, se seleccionaron las diluciones que estaban dentro o cerca del rango del recuento recomendado (15-150 colonias) para las placas Petrifilm de coliformes/ *E. coli*, que correspondieron a las diluciones 10^2 y 10^3 en ambos tipos de quesos:

Análisis para establecer diferencias en el número de *Escherichia coli* en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^2 de las cinco muestras de queso artesanal y las cinco muestras de queso industrial, según la prueba U de Mann Whitney mediante el programa Past4.

Cuadro N°10. Prueba U: Mann Whitney para *Escherichia coli* en la dilución 10^2 .

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Q. Industrial	Q. Artesanal		
N:	5	N:	5
Mean rank:	2.8	Mean rank:	2.7
Mann-Whitn U :	12		
z :	0	p (same med.):	1
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	0.9698	
Exact permutation:	p (same med.):	0.96825	

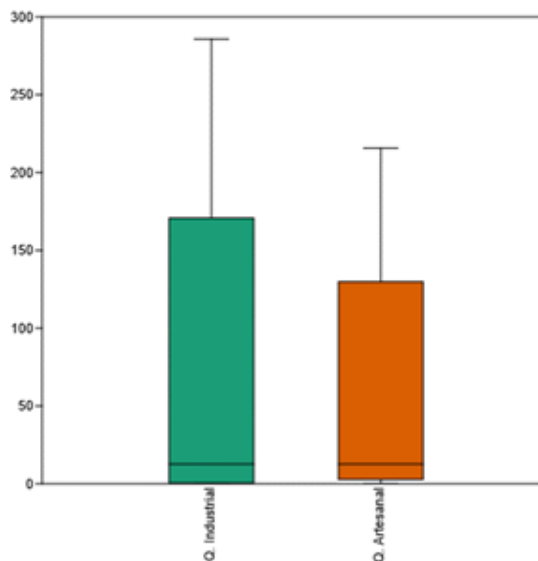


Figura N°15. Análisis de la mediana para establecer diferencias en el número de *Escherichia coli* en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^2 .

Análisis para establecer diferencias en el número de *Escherichia coli* en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^3 de las 5 muestras de queso artesanal y las 5 muestras de queso industrial según la prueba U de Mann Whitney, mediante el programa Past4.

Cuadro N°11. Prueba U: Mann Whitney para *Escherichia coli* en la dilución 10^3 .

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Q. Industrial	Q. Artesanal		
N:	5	N:	5
	2.85	Mean rank:	2.65
Mann-Whitn U :	11.5		
z :	0.11767	p (same med.):	0.90633
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	0.8366	
Exact permutation:	p (same med.):	0.84127	

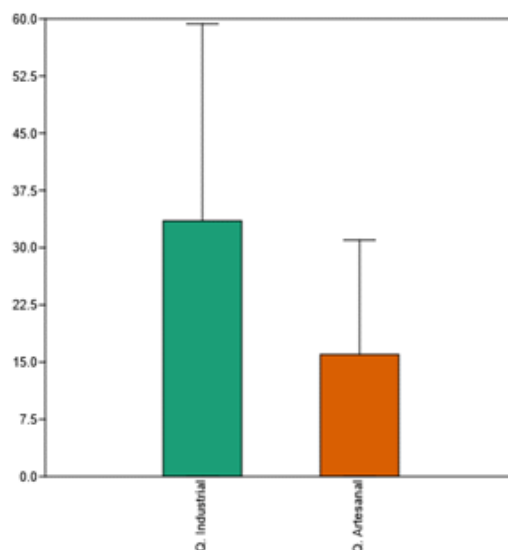


Figura N°16. Análisis de la mediana para establecer diferencias en el número de *Escherichia coli* en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^3 .

En el cuadro N°10 y cuadro N°11, los resultados obtenidos de las pruebas U de Mann Whitney indican que no existen diferencias en el número de *Escherichia coli* en la dilución 10^2 ($U=10$; $p= 0.96$; $g=5$), y en la dilución 10^3 ($U= 10$; $p= 0.83$; $g=5$) con referencia al promedio del

recuento de las colonias de *Escherichia coli* en el queso industrial y artesanal. Esto sugiere que ambos tipos de quesos presentaron un nivel de carga microbiana de *E. coli* muy similar.

En la figura N°15, se puede observar que el queso industrial presentaba una mediana de 12.67 igual a la mediana del queso artesanal 12.67 del recuento del promedio de colonias en la dilución 10^2 . En la figura N°16, se puede observar que el queso industrial tuvo una mediana de 0 al igual que el queso artesanal 0 en el recuento del promedio de las colonias *E. coli* en la dilución 10^3 . Los resultados en la mediana reflejan que ambos tipos de quesos tuvieron una carga microbiana muy similar.

c. Comparación de los resultados obtenidos con los estándares existentes microbiológicos de inocuidad y límites permisivos para *E. coli*:

En el cuadro N°9. Los valores reportados en las muestras 1, 3, 4 y 5 del queso fresco industrial variaron entre valores de 5.9×10^4 a 1×10^2 UFC/mL comparados con los valores de referencia microbiana establecidos para el queso fresco. Estos resultados indican que estuvieron por encima de los valores estándar aceptables que establece el (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018) el cual indica que no deben pasar de 10 UFC/mL y < 3 NMP/g que establece el (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003). Solo en la muestra 2 no se evidenció ningún recuento de crecimiento de *E. coli*.

En el queso artesanal los valores reportados en UFC/mL de las muestras 2, 3, 4 y 5 presentaron valores que variaron entre 6.2×10^2 a 3.1×10^4 UFC/mL. Estos valores estuvieron por encima de los valores estándar de referencia que establece el (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018) correspondiente a 10 UFC/mL y < 3 NMP/g que establece el (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003). En la muestra 1 no se evidencio crecimiento de colonias de *E. coli* lo cual indica que cumple con los valores que establece el reglamento.

Los resultados obtenidos nos indican que cuatro muestras de queso tanto industrial como cuatro muestras del queso artesanal presentaron recuentos elevados de *E. coli* a niveles mayores de 10^2 UFC/mL, superando los valores estándar de referencia. Las pruebas estadísticas también evidencian que ambos tipos de quesos artesanal como industrial presentaron un nivel de contaminación muy similar.

Estos resultados generan una preocupación debido a que hay altos recuentos de cepas de *E. coli* en algunas muestras de queso artesanal y muestras de queso industrial. Esta preocupación se debe a que, en investigaciones previas, establecen que *E. coli* es un microorganismo que se encuentra comúnmente en el microbiota intestinal del hombre y de los animales, y su presencia en los alimentos indica contaminación fecal representando un riesgo para la salud de los consumidores y su principal fuente de contaminación de *E. coli* en la elaboración del queso, es la utilización de leche sin pasteurizar debido a una posible contaminación durante el ordeño (Kousta, et al., 2010); (Merchan et al., 2018). El proceso de pasteurización (72°C por 15 s) (63°C por 30 min) a la que se somete la leche para la producción de queso fresco reduce el riesgo para la presencia de *E. coli* ya que puede eliminarse fácilmente mediante procesos térmicos, por tal razón se sospecha de la utilización de leche sin pasteurizar (Rodríguez et al., 2009); (MINSALUD, 2015). Hay investigaciones que muestran que la utilización de leche cruda para la elaboración de quesos son la principal fuente de *Escherichia coli* y otros microorganismos patógenos por ejemplo, una investigación realizada por (Guzman et al., 2016) donde se analizó 52 quesos fresco artesanal elaborados con leche de vaca sin pasteurizar utilizando el método de número más probable, los resultados indicaban que más de la mitad de las muestras de quesos artesanal elaborados con leche sin pasteurizar fueron positivos para coliformes fecales (67%) y *E. coli* (63%) lo que revelaba su baja calidad microbiológica y además albergaban cepas diarreicas de *E. coli*, también habían ocho muestras que albergaban *E. coli* productora de toxina Shiga O157 (STEC) y una muestra contenía cepas de *E. coli* STEC. Sin embargo, algunas muestras del queso industrial también presentaron crecimiento de *E. coli* sospechándose de su fabricación a partir de leche cruda.

La presencia de *E. coli* en algunas muestras de queso fresco artesanal como industrial, puede sugerir que haya presencia de serotipos de *E. coli* enteropatógenas los cuales son responsables de causar infecciones por invasión en el tramo superior del intestino delgado y de la producción de enterotoxinas causando gastroenteritis con síntomas de diarrea, vómitos, dolor abdominal, inflamaciones en el aparato urinario, septicemia con síntomas como fiebre, escalofríos, dificultad para respirar incluso meningitis neonatal (Murray et al., 2006).

Debido a que *E. coli* es una bacteria prevalente en el tracto intestinal del ganado se asume que hay una correlación entre los coliformes totales, fecales y otros patógenos entéricos, este

microorganismo puede introducirse en el tanque refrigerado de la leche, por la secreción intramamaria o por vía de contaminación fecal de la ubre y mala higiene del equipo de ordeño (Van Kessel et al., 2004); (Jafar & Zohreh, 2015). La presencia de *E. coli* patógena en la leche cruda está asociada con la invasión a través del orificio del conducto del pezón, lo cual puede crear una inflamación de las glándulas mamarias de las vacas ocasionando una mastitis bovina, pero también puede encontrarse *E. coli* patógenas sobre el epitelio de la ubre procedente del medio ambiente por el contacto con el suelo o agua residual, por lo que es importante que la leche sea pasteurizada correctamente para la elaboración del queso (Reyes et al., 2016).

El ser humano también puede convertirse en un factor importante y principal de contaminación con *E. coli* ETEC, y para *E. coli* VETEC por malas prácticas de higiene o por una contaminación cruzada con leche cruda debido a unas deficiencias de limpieza de los equipos de trabajo convirtiéndose en la principal fuente de contaminación (MINSALUD, 2015); (Merchan et al., 2018)

Si el microorganismo se encuentra presente hasta la etapa de almacenamiento, la interrupción de la cadena de frío puede favorecer la multiplicación bacteriana (Gomez, 2005). Esto demuestra la importancia de realizar verificaciones periódicas en las plantas productoras de queso para verificar que se cumplan con las normas establecidas. Además, el transporte del producto debe cumplir con los reglamentos con las temperaturas, humedad que eviten la multiplicación del microorganismo.

1.3 Recuento de *Staphylococcus aureus* en queso fresco artesanal e industrial

a. Análisis de la evaluación cuantitativa de la carga microbiana de *Staphylococcus aureus*

Cuadro N°12. Recuento de *Staphylococcus aureus* en quesos fresco artesanal e industrial.

<i>Staphylococcus aureus</i>					
Tipo de queso	Muestras	Dilución en el rango de recuento recomendado <150	Recuento de colonias promedio en base a 3 réplicas	UFC/mL	Valor estándar de referencia
Industrial	1	10^5	18×10^5	1.8×10^6	10 UFC/mL (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018). -10 UFC/g (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003).
	2	10^5	40.33×10^5	4.0×10^6	
	3	10^3	2.5×10^3	2.5×10^3	
	4	10^3	0	0	
	5	10^3	0	0	
Artesanal	1	10^4	27×10^4	2.7×10^5	
	2	10^4	55.33×10^4	5.5×10^6	
	3	10^5	90.67×10^5	9.1×10^6	
	4	10^3	0	0	
	5	10^4	24.33×10^4	2.4×10^5	

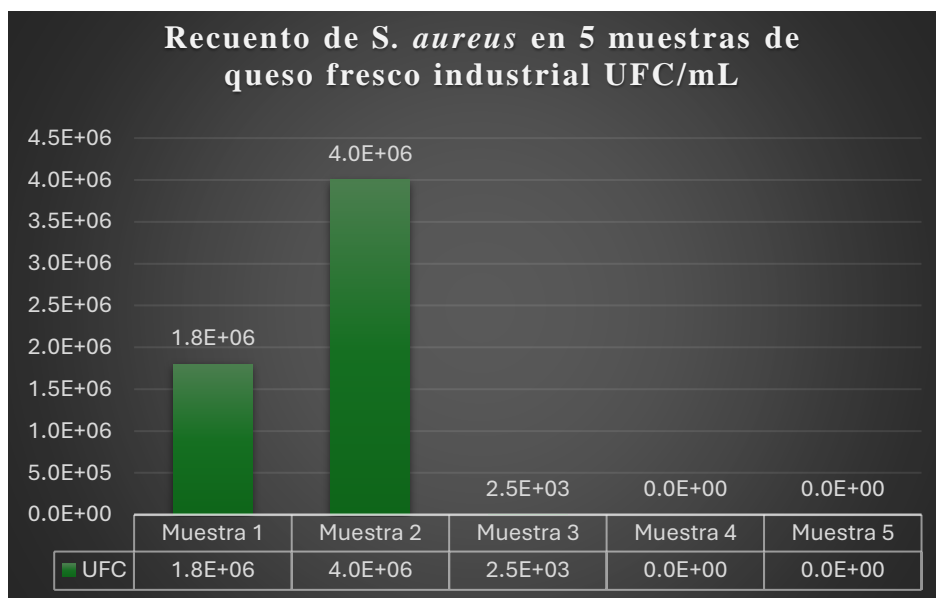


Figura N°17. Recuento de *S. aureus* en 5 muestras de queso fresco industrial UFC/mL.

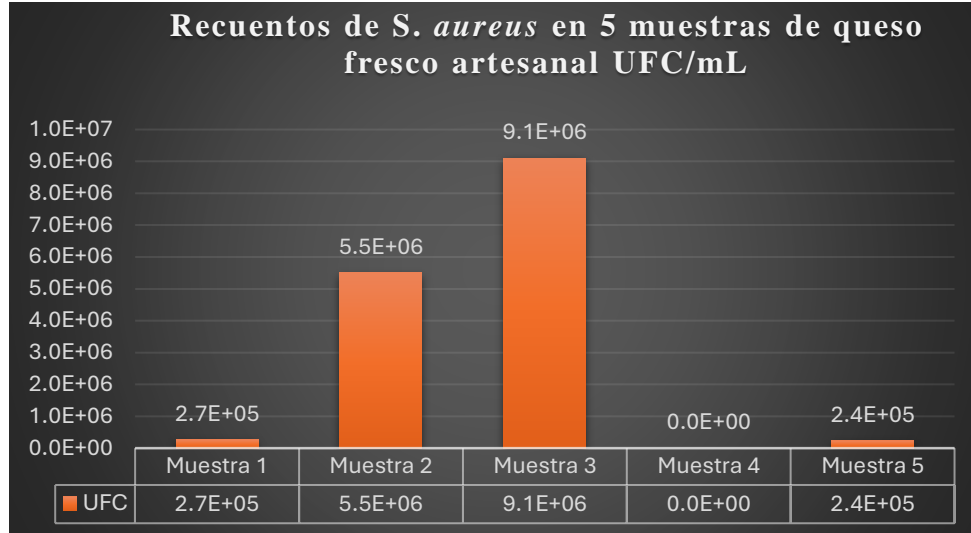


Figura N°18. Recuento de *S. aureus* en 5 muestras de queso fresco artesanal UFC/mL.

Los resultados mostraron que algunas muestras de queso industrial y artesanal se encontraron por encima del límite máximo permitido, con recuentos incontables (DNPC) reportados en las diluciones 10^1 , 10^2 , 10^3 , lo cual muestra una elevada carga microbiana por parte de este microorganismo y una gran variabilidad en el recuento de *S. aureus* en ambos tipos de quesos.

En el cuadro N°12. Los resultados de los recuentos de *S. aureus* en el queso fresco industrial reflejan que las muestras 1, 2, 3 presentaron crecimiento de bacterias *S. aureus* capaces de crecer y formar colonias visibles en cada muestra y con recuentos con niveles mayores a 10^3 UFC/mL en comparación con los valores de referencia 10^1 UFC/mL. En la muestra 4 y 5 no se evidenció crecimiento de colonias de *S. aureus* en ninguna de las diluciones seleccionadas para la inoculación en las placas Petrifilm, resultando con un recuento promedio de 0.

En la figura N°17, se puede observar que la muestra 1: 18×10^5 (1.8×10^6 UFC/mL) y la muestra 2: 40.33×10^5 (4.0×10^6 UFC/mL) reportada en la dilución 10^5 presentaron un valor de recuento promedio más alto de carga microbiana en comparación con la muestra 3 que presentó un valor más bajo de carga microbiana con un recuento promedio de 2.5×10^3 y (2.5×10^3 UFC/mL) reportada en la dilución 10^3 .

En el queso artesanal, las muestras 1, 2, 3 y 5 presentaron crecimiento de bacterias de *S. aureus* capaces de crecer y formar colonias visibles y con recuento en niveles mayores a 10^5 UFC/mL. La muestra 4 no se observó crecimiento de colonias de *S. aureus*, en ninguna de las diluciones seleccionadas para la inoculación en las placas Petrifilm, resultando en un recuento promedio de 0.

En la figura N°18, se puede observar que la muestra 3 presentó un valor más alto de carga microbiana con un recuento promedio de 90.67×10^5 y (9.1×10^6) UFC/mL reportada en la dilución 10^5 y la muestra 2 con un recuento promedio de 55.33×10^4 y (5.5×10^6) UFC/mL reportada en la dilución 10^4 en comparación con la muestra 5, que presentó un valor más bajo de las 4 muestras que salieron con *Staphylococcus aureus* con un recuento promedio de 24.33×10^4 y (2.4×10^5) UFC/mL reportada en la dilución 10^4 , ver cuadro N°12.

b. Análisis estadísticos para establecer diferencias en el número de *S. aureus* en el recuento de las colonias de las cinco muestras de queso artesanal y las cinco muestras de queso industrial

Para el análisis estadístico, se seleccionaron las diluciones dentro o cerca del rango de recuento recomendado (15-150 colonias) para las placas Petrifilm de *S. aureus*. que corresponde a las diluciones 10^4 y 10^5 en ambos tipos de quesos:

Análisis para establecer diferencias en el número de *Staphylococcus aureus* en el recuento de promedio de las colonias en la dilución 10^4 de las cinco muestras de queso artesanal y las cinco muestras de queso industrial según la prueba U de Mann Whitney, mediante el programa Past4.

Cuadro N°13. Prueba U: Mann Whitney para *Staphylococcus aureus* en la dilución 10^4 .

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Q. Industrial	Q. Artesanal		
N:	5	N:	5
Mean rank:	2.65	Mean rank:	2.85
Mann-Whitn U :	11.5		
z :	0.10607	p (same med.):	0.91553
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	0.8811	
Exact permutation:	p (same med.):	0.88095	

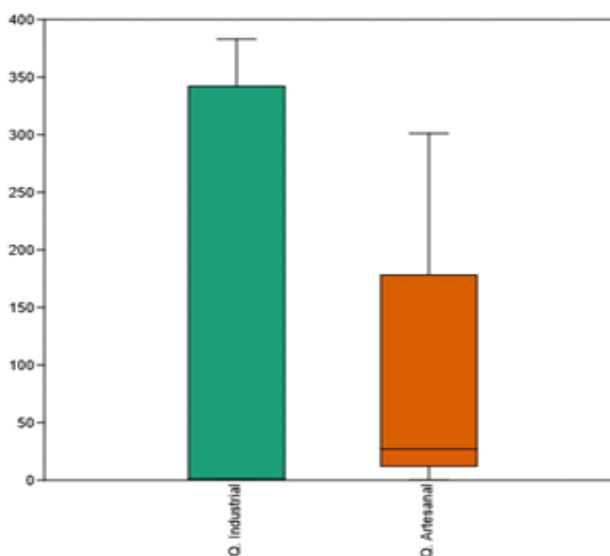


Figura N°19. Análisis para establecer diferencias en el número de *Staphylococcus aureus* en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^4 .

Análisis para establecer diferencias en el número de *Staphylococcus aureus* en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^5 de las 5 muestras de queso artesanal y las 5 muestras de queso industrial según la prueba U de Mann Whitney, mediante el programa Past4.

Cuadro N°14. Prueba U: Mann Whitney para *Staphylococcus aureus* en la dilución 10^5 .

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Q. Industrial	Q. Artesanal		
N:	5	N:	5
Mean rank:	2.45	Mean rank:	3.05
Mann-Whitn U :	9.5		
z :	0.53882	p (same med.):	0.59001
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	0.5557	
Exact permutation:	p (same med.):	0.55556	

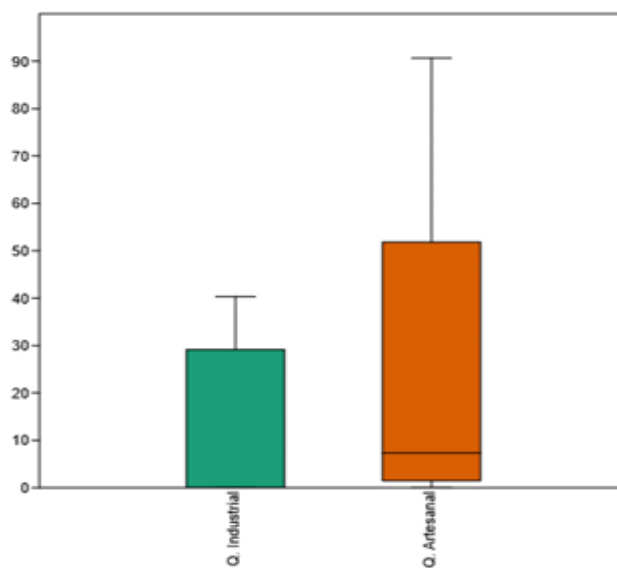


Figura N°20. Análisis para establecer diferencias en el número de *Staphylococcus aureus* en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^5 .

En el cuadro N°13 y el cuadro N°14. Los resultados obtenidos indican que no existen diferencias en el número de *Staphylococcus aureus* en la dilución 10^4 ($U=10$; $p= 0.88$; $g=5$), y en la dilución 10^5 ($U= 10$; $p= 0.55$; $g=5$) con referencia al promedio del conteo de las colonias

de *Staphylococcus aureus* en el queso industrial y artesanal. Esto sugiere que ambos tipos de quesos presentaron un nivel de carga microbiana muy similar y excediendo los límites permisibles.

En la figura N°19, se pudo observar que en el queso industrial presentaba una mediana de 1 en recuento del promedio de las colonias *S. aureus* en la dilución 10^4 en comparación con el queso artesanal que tuvo una mediana de 27. En la figura N°20, de la dilución 10^5 , el queso industrial también tuvo una mediana de 0 y el queso artesanal tuvo una mediana de 7.33. Los resultados de la mediana sugieren que las muestras de queso industrial en la dilución 10^4 y 10^5 se encontraron recuentos de colonias de *S. aureus* mucho más baja en comparación con los recuentos en el queso artesanal que tuvo muestras con recuentos de colonias de *S. aureus* más alto.

c. Comparación de los resultados obtenidos con los estándares existentes microbiológicos de inocuidad y límites permisivos para *Staphylococcus aureus*:

En el cuadro N°12. Los recuentos de *S. aureus* reportados en UFC/mL en las muestras 1, 2 y 3 del queso fresco industrial superan las 10^3 UFC/mL. Los recuentos de *S. aureus* reportados en UFC/mL de las muestras 1, 2, 3 y 5 del queso fresco artesanal, también superan las 10^3 UFC/mL. Estos valores se encuentran a niveles superiores a los valores establecidos por el (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018) para el queso fresco, el cual indica que no deben pasar de 10 UFC/mL y -10 UFC/g que establece el (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003) generando una preocupación en la salud del consumidor debido a las enterotoxinas que puede ocasionar intoxicaciones. Por lo tanto, estas muestras de queso industrial y artesanal se consideran no aptas para su consumo. Solo la muestra 4, 5 del queso fresco industrial y la muestra 4 del queso fresco artesanal no presentaron evidencia de crecimiento en las diluciones seleccionadas para la inoculación en las placas Petrifilm.

Los resultados sugieren que ambos tipos de quesos presentaron un nivel de contaminación muy similar. Esto genera preocupación porque la presencia de *S. aureus* en altas cantidades puede indicar presencia de toxinas termoestables que son responsables de ocasionar intoxicación que producen gastroenteritis o inflamaciones en la mucosa que reviste el tracto gastrointestinal, los síntomas van desde náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea y cuando las intoxicaciones son

graves producen heces y vómitos que se pueden encontrarse sangre, también producen calambre muscular, shock, pulso débil, cefalea y sudoración (Murray et al., 2006).

Un factor crítico, es la contaminación de la leche durante el ordeño, lo cual compromete la calidad del queso sobre todo si se utiliza leche cruda sin pasteurizar, así como malas prácticas de ordeños y el empleo de animales enfermos como el caso de vacas con mastitis (Castro et al., 2013). Esta condición puede contaminar la leche durante el ordeño debido a la presencia de microorganismos comensales o patógenos adheridos al epitelio alveolar de la glándula mamaria responsables de mastitis ocasionadas principalmente por *S. aureus* (Vargas & Toro, 2021).

Los autores (Arguello et al., 2016) indican que la presencia de *S. aureus* en los quesos especialmente queso artesanal, se debe a la contaminación de la materia prima (utilización de leche cruda), durante el proceso de elaboración. Nuestros resultados fueron casi similares a los obtenidos por (Johler et al., 2015) aunque ellos detectaron la presencia de estafilococos coagulasa positivos por gramo de queso, con 3 cepas diferentes de *S. aureus* presentes en niveles $>10^6$ UFC/g lo cual fue aún más alarmante, además detectaron como fuente de brote una cepa productora de enterotoxinas responsables de brotes de intoxicaciones alimenticias, por lo cual llegaron a la conclusión de que la utilización de leche cruda para la elaboración del queso fresco tipo Tomme fuera el factor por el cual estuviera muy contaminada el queso con *S. aureus*.

Las características fisicoquímicas que presenta el queso fresco como el pH ligeramente ácido, concentración de cloruro de sodio (NaCl) y valor nutricional favorecen el crecimiento y la presencia de *S. aureus* por factores ambientales y por contaminación durante el procesamiento por re-contaminación luego de la pasteurización debido a la manipulación asociadas a malas prácticas de higiene durante el procesamiento ya sea porque no utilizan guantes, gorros para el cabello, mascarillas, uniforme adecuado y el aseo personal. Una investigación realizada por (Delgado & Torres, 2003) menciona que las altas cargas de *S. aureus* en el queso fresco indica una contaminación a partir de la piel, boca, fosas nasales de los portadores de la infección que manipulan este alimento, otro factor puede ser porque no se desinfectan bien los utensilios y equipos en una planta procesadora de queso. Se ha demostrado que las cepas de *S. aureus* que están en las manos de los manipuladores son las mismas encontradas en los equipos y utensilios de cocina, evidenciando que este fenómeno contribuye a la carga microbiana en alimentos que requieran manipulación durante el proceso (Vautor et al., 2005); (Castillo & Glenda, 2013);

(Aravena et al., 2021). Nuestros resultados también se pueden comparar con el estudio realizado en el año 2018 por (Merchan et al., 2018) ya que las causas y presencia de *S. aureus* también fueron positivos con un porcentaje de 43,71% en muestras de quesos frescos analizados en Cuenca desde el año 2007 hasta el 2016 llegando a la conclusión de que la incorrecta manipulación del producto es uno de varios factores que contribuyeron a los resultados obtenidos.

Otras investigaciones indican que la contaminación del queso fresco por *S. aureus* puede deberse a condiciones inadecuadas de temperatura de almacenamiento durante el transporte de la materia prima después del ordeño lo que contribuye a una contaminación más acelerada si se encuentra este microorganismo presente (Nunes et al., 2016).

Nuestras observaciones del área donde se distribuía el queso industrial comercializado en su envoltura de fábrica almacenados en una nevera abierta a una temperatura de 4°C en un supermercado. El queso artesanal comercializado en un mercado de alimento era comercializado en bolsas plásticas por lo general el queso era vendido en bloque por libra, pero también los vendían por menos, ejemplo media libra y para esto dividían el queso para pesarlo utilizando cuchillos, que a su vez utilizaban para realizar el corte de otros productos sin una limpieza o desinfección previa, el vendedor no utilizaba guantes durante el corte y distribución, ni mascarilla o gorros para el cabello y el queso era expuesto al ambiente, pero en ocasiones era almacenado en un refrigerador para su venta.

1.4 Recuento de hongos filamentosos en quesos frescos artesanal e industrial

a. Análisis de la evaluación cuantitativa de la carga microbiana de hongos filamentosos

Cuadro N°15. Recuento de hongos en quesos industriales y artesanales.

Hongos filamentosos					
Tipo de queso	N° de Muestras	Dilución en el rango de recuento recomendado <150	Recuento de colonias promedio en base a 3 réplicas	UFC/mL	Valor estándar de referencia
Industrial	1	10 ²	1.33x10 ²	1.3x10 ²	-10 UFC/mL (Reglamento técnico 16-377-99, 2001).
	2	10 ²	4x10 ²	4.0x10 ¹	
	3	10 ²	0	0	
	4	10 ²	0	0	
	5	10 ²	0	0	
Artesanal	1	10 ¹	0	0	
	2	10 ¹	0	0	
	3	10 ²	28.33x10 ²	2.8x10 ³	
	4	10 ¹	2.67x10 ¹	2.7x10 ¹	
	5	10 ¹	11x10 ¹	1.1x10 ²	

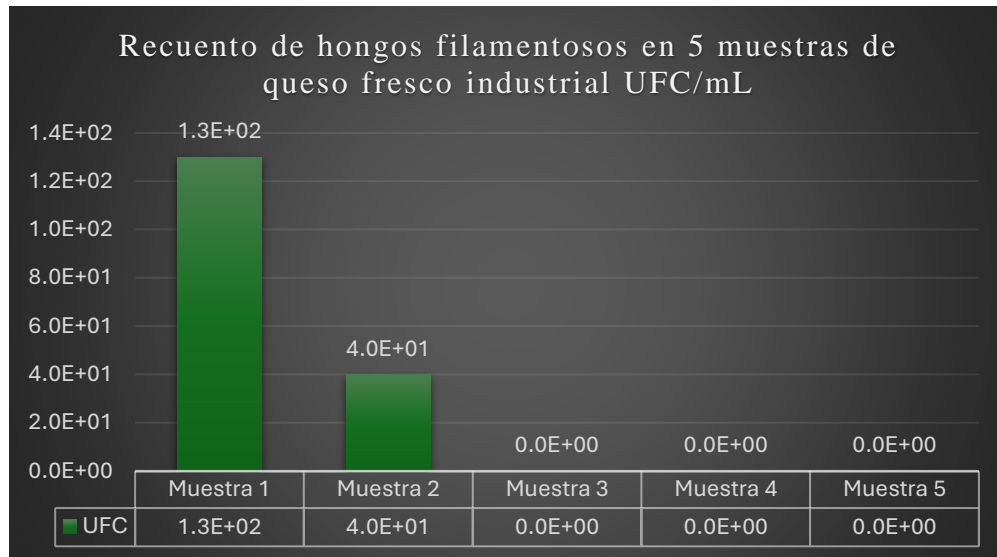


Figura N°21. Recuento de hongos filamentosos en 5 muestras de queso fresco industrial UFC/mL.

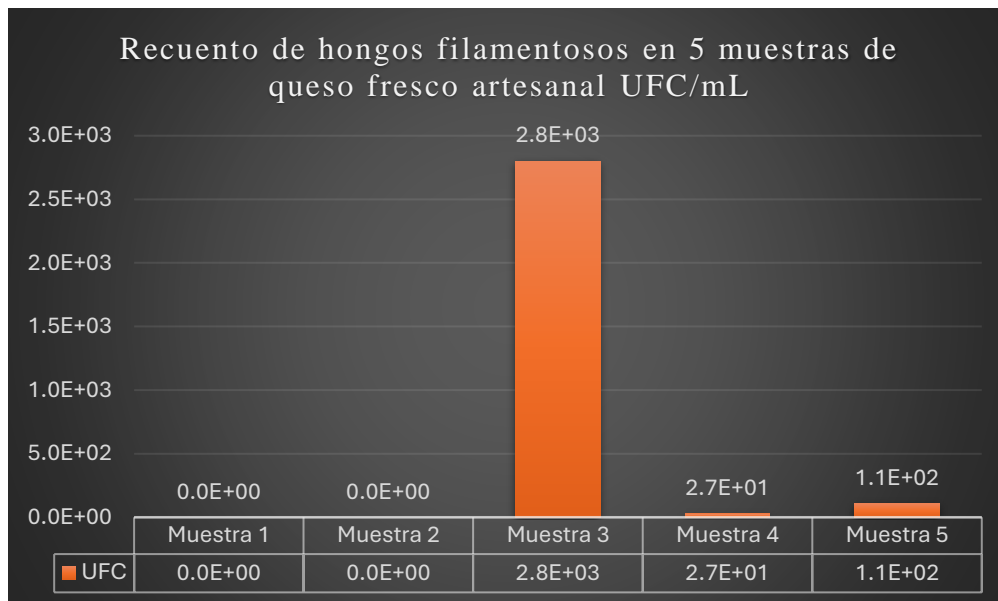


Figura N°22. Recuento de hongos filamentosos en 5 muestras de queso fresco artesanal UFC/mL.

Los quesos artesanales en promedio de colonias de hongos mostraron un mayor recuento de colonias en comparación con los quesos industriales. Esto sugiere que los quesos artesanales

podrían tener una mayor susceptibilidad a la contaminación fúngica, posiblemente debido a diferencias en los procesos de producción y manejo.

En el cuadro N°15. El recuento promedio de colonias en los quesos industriales fue generalmente bajo en comparación con las muestras de queso blanco artesanal. Las muestras 1 y 2 tuvieron recuentos promedio de colonias de 1.33×10^2 (1.3×10^2 UFC/mL) y 4×10^2 (4.0×10^1 UFC/mL) respectivamente en una dilución de 10^2 . Sin embargo, las muestras 3, 4, y 5 no presentaron crecimiento de colonias en ninguna de las diluciones seleccionadas para la inoculación en las placas Petrifilm, resultando en un recuento promedio de 0 UFC/mL.

En contraste, los quesos artesanales mostraron recuentos de colonias más elevados. En el cuadro N°15. La muestra 3 tuvo el mayor recuento promedio con 28.33×10^2 , (2.8×10^3 UFC/mL) en la dilución 10^2 , siendo la muestra con el promedio más alto de todas las muestras analizadas para hongos. Las muestras 4 y 5, también presentaron crecimiento, con recuentos de 2.7×10^1 y 1.1×10^2 UFC/mL, respectivamente, en la dilución 10^1 . La muestra 1 y 2 no mostraron crecimiento de hongos en ninguna de las diluciones seleccionadas para la inoculación en las placas Petrifilm, con un recuento de 0 UFC/mL.

b. Análisis estadísticos para establecer diferencias en el número de hongos filamentosos de las cinco muestras de queso artesanal y las cinco muestras de queso industrial.

Para el análisis estadístico, se seleccionaron las diluciones cerca o dentro del rango de recuento recomendado (15-150 colonias) para las placas Petrifilm de hongos y levaduras, que corresponde a las diluciones 10^2 y 10^3 en ambos tipos de quesos:

Análisis para establecer diferencias en el número de hongos en el recuento promedio de colonias en la dilución 10^2 de las 5 muestras de queso artesanal y las 5 muestras de queso industrial según la prueba U de Mann Whitney, mediante el programa Past4.

Cuadro N°16. Prueba U: Mann Whitney para hongos filamentosos en la dilución 10^2 .

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Q. Industrial	Q. Artesanal		
N:	5	N:	5
Mean rank:	2.65	Mean rank:	2.85
Mann-Whitn U :	11.5		
z :	0.11767	p (same med.):	0.90633
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	0.8366	
Exact permutation:	p (same med.):	0.84127	

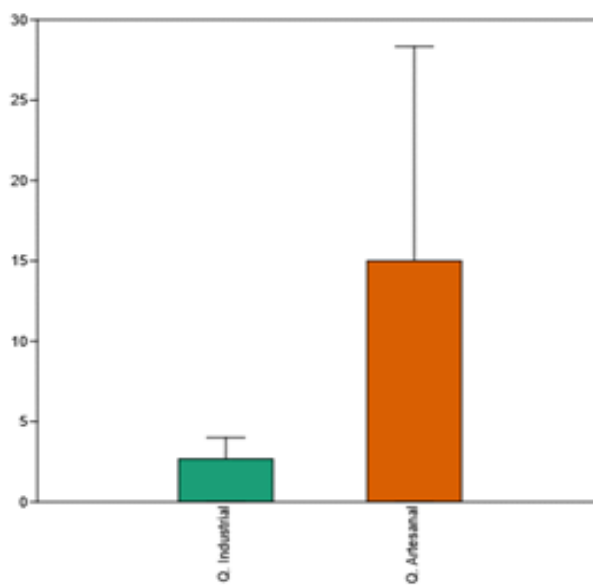


Figura N°23. Análisis para establecer diferencias en el número de hongos filamentosos en el recuento promedio de las colonias en la dilución 10^2 .

Análisis para establecer diferencias en el número de hongos en el recuento promedio de colonias en la dilución 10^3 de las 5 muestras de queso artesanal y las 5 muestras de queso industrial según la prueba U de Mann Whitney, mediante el programa Past4.

Cuadro N°17. Prueba U: Mann Whitney para hongos en la dilución 10^3 .

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Q. Industrial	Q. Artesanal		
N:	5	N:	5
Mean rank:	2.9	Mean rank:	2.6
Mann-Whitn U :	11		
z :	0.25701	p (same med.):	0.79717
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	1	
Exact permutation:	p (same med.):	1	

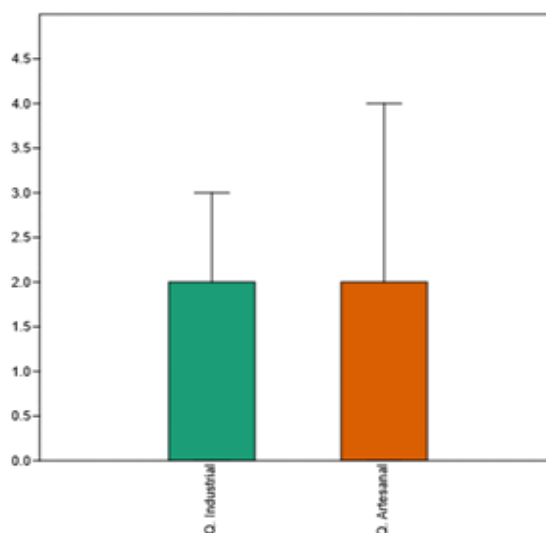


Figura N°24. Análisis para establecer diferencias en el número de hongos filamentosos en la dilución 10^3 .

En el cuadro N°16 y en el cuadro N°17. Los resultados obtenidos indican que no existen diferencias en el número de hongos en la dilución 10^2 ($U=10$; $p=0.84$; $g=5$), y en la dilución 10^3 ($U= 10$; $p= 1$; $g=5$) con referencia el recuento promedio de las colonias de hongos en el queso industrial y artesanal. En la figura N°23 de la dilución 10^2 , se pudo observar que tanto el queso industrial como el artesanal, presentaban una mediana de 0 en recuento del promedio de las colonias hongos en la dilución 10^2 . En la figura N°24 de la dilución 10^3 , el queso industrial y el queso artesanal, también tuvieron una mediana de 0.

c. Comparación de los resultados obtenidos con los estándares existentes microbiológicos de inocuidad permisivo para hongos filamentosos

Las muestras 1 y 2 del queso industrial presentaron recuentos reportados en UFC/mL los cuales mostraron que superaron significativamente el valor estándar permitido de -10 UFC/mL, valor referencia según el (Reglamento técnico 16-377-99, 2001).

Estos resultados indican una contaminación fúngica considerable en estas muestras, con un recuento de colonias muy por encima del límite aceptable. Sin embargo, las muestras 3, 4, y 5 no presentaron crecimiento de colonias, resultando en un recuento promedio de 0 UFC/mL.

Este resultado destaca una posible mayor susceptibilidad de los quesos artesanales a la contaminación fúngica, lo cual podría deberse a diferencias en los procesos de producción, manipulación o almacenamiento. Estos resultados son comunes en productos lácteos artesanales en comparación con los industriales, porque estos indicadores microbianos pueden estar presentes en el ambiente agropecuario y se pueden encontrar en la leche o en el área de elaboración (Merchán et al. 2019). Lo cual no concuerda con lo esperado para un queso industrial. En la investigación por (Armas et al. 2020) los recuentos de hongos filamentosos viables obtenidos en la investigación fueron significativamente superiores ($p<0,05$) en las muestras de queso con respecto a leche. En el caso del queso fresco, la presencia de hongos indica un estado alterado o descompuesto, ya que su proliferación puede causar problemas como la generación de olores desagradables y modificaciones en la textura y la consistencia del queso, esto puede llevar a la pérdida de su calidad de estado original e incluso a que el producto sea devuelto por los consumidores, además, existe preocupación por la salud, ya que los hongos tienen el potencial de producir intoxicaciones alimentarias por la ingesta de metabolitos tóxicos denominados micotoxinas las cuales son tóxicas para los seres humanos y tienen importancia

por su propiedad cancerígena a largo plazo y efectos tóxicos (Frazier & Westhoff, 1994); (Rodríguez et al. 2021).

1.5 Recuento de levaduras en quesos frescos artesanal e industrial

a. Análisis de la evaluación cuantitativa de la carga microbiana de levaduras.

Cuadro N°18. Recuento de levaduras en quesos industriales y artesanales.

Levaduras					
Tipo de queso	N° de Muestras	Dilución en el rango de recuento recomendado <150	Recuento de colonias promedio en base a 3 réplicas	UFC/mL	Valor estándar de referencia
Industrial	1	10^4	12.33×10^4	1.2×10^5	-10 UFC/mL (Reglamento técnico 16-377-99, 2001).
	2	10^4	30.33×10^4	3.0×10^5	
	3	10^2	23×10^2	2.3×10^3	
	4	10^2	99.66×10^2	9.9×10^3	
	5	10^3	43×10^3	4.3×10^4	
Artesanal	1	10^2	51.33×10^2	5.1×10^3	
	2	10^2	56×10^2	5.6×10^3	
	3	10^2	19.33×10^2	1.9×10^3	
	4	10^1	48.33×10^1	4.8×10^2	
	5	10^3	55×10^3	5.5×10^4	

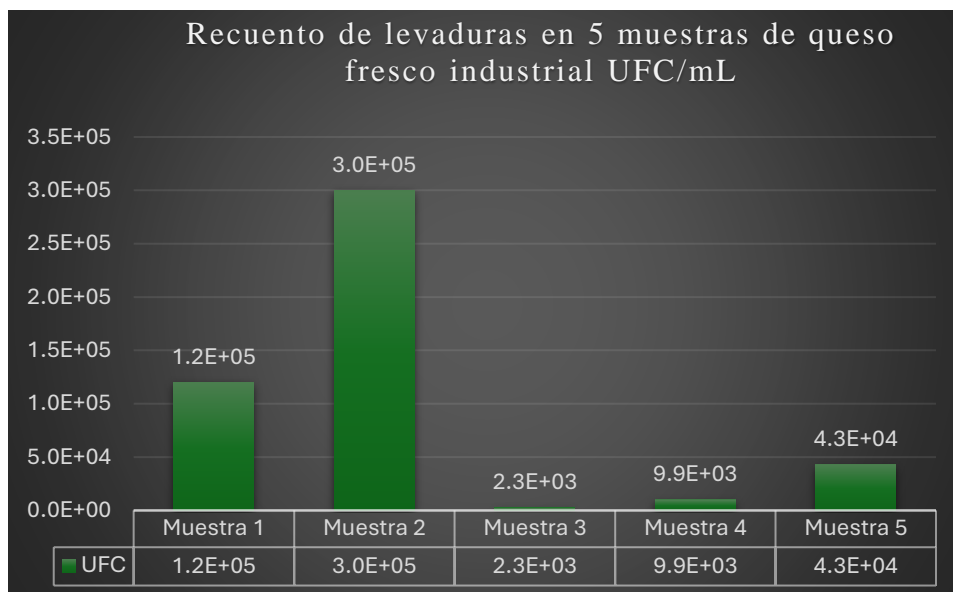


Figura N°25. Recuento de levaduras en 5 muestras de queso industrial UFC/mL.

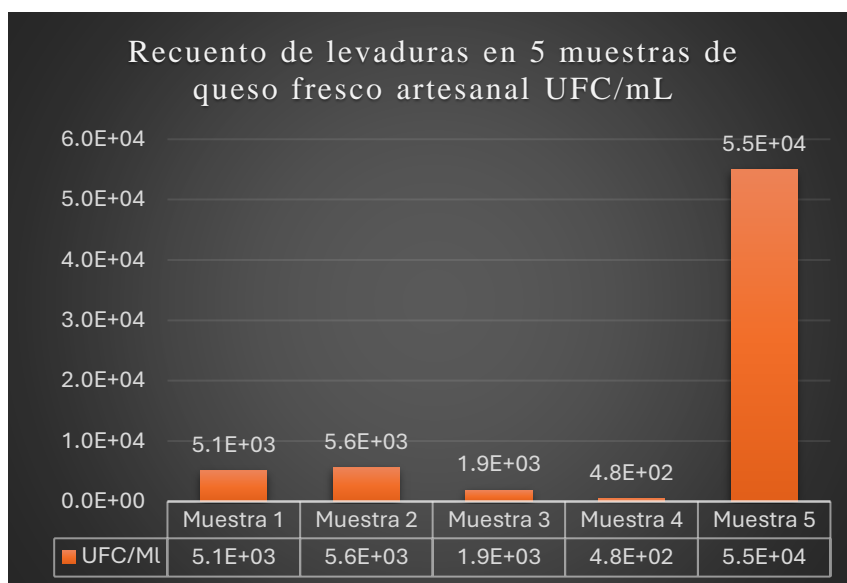


Figura N°26. Recuento de levaduras en 5 muestras de queso fresco artesanal UFC/mL.

Los quesos industriales en promedio mostraron un mayor recuento de colonias de levaduras comparado con los quesos artesanales. Esto indica que, aunque ambos tipos de queso superan los límites permitidos, los quesos industriales presentan una mayor carga de levaduras.

En el cuadro N°18. Se muestra que las 5 muestras de queso industrial analizados superan ampliamente el valor estándar permitido de -10 UFC/mL, indicando una alta presencia de

levaduras. En la figura N°24. La muestra 2 tiene el mayor recuento de colonias de levadura con 30.33×10^4 (3.0×10^5 UFC/mL) en la dilución 10^4 , lo que evidencia una contaminación considerable de levaduras en esta muestra. Mientras en la dilución 10^4 para la muestra 1 el promedio del recuento de colonias fue 12.33×10^4 (1.2×10^5 UFC/mL), en la muestra 3 fue 23×10^2 (2.3×10^3 UFC/mL) en la dilución 10^2 . la muestra 4 fue 99.66×10^2 (9.9×10^3 UFC/mL) dilución 10^2 y la muestra 5 de 43×10^3 (4.3×10^4 UFC/mL) en la dilución 10^3 .

En el queso artesanal, la muestra 5 tiene el mayor recuento con 55×10^3 UFC/mL en la dilución 10^3 , mostrando una contaminación significativa, aunque menor que la observada en las muestras industriales. En la dilución 10^2 el promedio del recuento de colonias de levaduras de la muestra fue, muestra 1 de 51.33×10^2 (5.1×10^3 UFC/mL), muestra 2 con 56×10^2 (5.6×10^3 UFC/mL) y muestra 3 con un promedio de 19.33×10^2 (1.9×10^3 UFC/mL). La muestra 4 con un promedio de 48.33×10^1 (4.8×10^2 UFC/mL) en la dilución 10^1 y la muestra 5 con 55×10^3 (5.5×10^4 UFC/mL) en la dilución 10^3 . Los resultados indican que las muestras de quesos industriales, especialmente la muestra 2, tienen un recuento de levaduras mucho mayor que las muestras de quesos artesanales, ver cuadro N°18.

b. Análisis estadísticos para establecer diferencias en el número de levaduras de las cinco muestras de queso industrial y las cinco muestras del queso artesanal.

Para el análisis estadístico, se seleccionaron las diluciones cerca o dentro del rango de recuento recomendado (15-150 colonias) para las placas Petrifilm de hongos y levaduras, que corresponden a las diluciones 10^2 y 10^3 en ambos tipos de quesos:

Análisis para establecer diferencias en el número de levaduras en la dilución 10^2 de las 5 muestras de queso artesanal y las 5 muestras de queso industrial según la prueba U de Mann Whitney, mediante el programa Past4.

Cuadro N°19. Prueba U: Mann Whitney para levaduras en la dilución 10^2 .

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Q. Industrial	Q. Artesanal		
N:	5	N:	5
Mean rank:	3.6	Mean rank:	1.9
Mann-Whitn U :	4		
z :	1.6918	p (same med.):	0.090688
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	0.0911	
Exact permutation:	p (same med.):	0.095238	

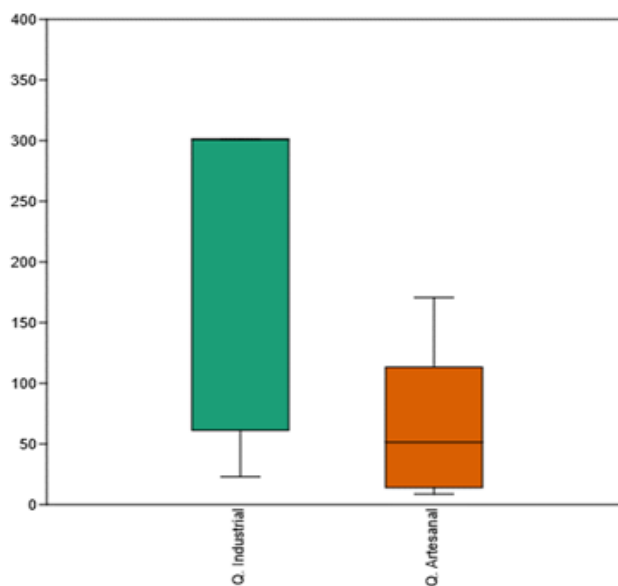


Figura N°27. Análisis para establecer diferencias en el número de levaduras en el recuento promedio de colonias en la dilución 10^2 .

Análisis para establecer diferencias en el número de levaduras en el recuento promedio de colonias en la dilución 10^3 de las 5 muestras de queso artesanal y las 5 muestras de queso industrial según la prueba U de Mann Whitney, mediante el programa Past4.

Cuadro N°20. Prueba U: Mann Whitney para levaduras en la dilución 10^3 .

Mann-Whitney test for "equal medians"			
Q. Industrial	Q. Artesanal		
N:	5	N:	5
Mean rank:	3.5	Mean rank:	2
Mann-Whitn U :	5		
z :	1.4623	p (same med.):	0.14367
Monte Carlo permutation:	p (same med.):	0.1468	
Exact permutation:	p (same med.):	0.15079	

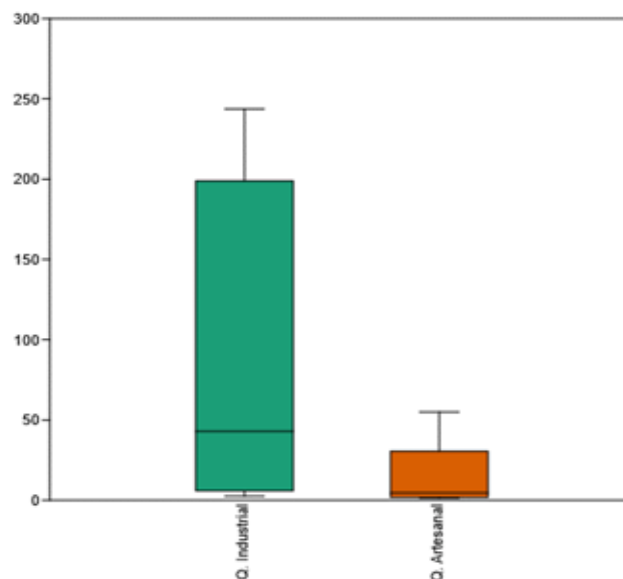


Figura N°28. Análisis para establecer diferencias en el número de levaduras en el recuento promedio de colonias en la dilución 10^3 .

En los cuadros N°19 y en el cuadro N°20. Los resultados obtenidos indican que no existen diferencias en el número de levaduras en la dilución 10^2 ($U=10$; $p= 0.09$; $g=5$), y en la dilución 10^3 ($U= 10$; $p= 0.14$; $g=5$) con referencia al promedio del conteo de las colonias de levaduras en el queso artesanal e industrial. Lo que sugiere que la cantidad de colonias de levaduras es similar en ambos tipos de quesos.

Se pudo observar que en la figura N°27, el queso artesanal presenta una mediana de 51 del recuento de colonias del promedio en la dilución 10^2 y el queso industrial una mediana de 301. Sin embargo, en la figura N°28, el queso industrial presentaba una mediana de 43 del recuento de colonias del promedio en la dilución 10^3 , en comparación al queso artesanal que tuvo una mediana de 4.67. Estos resultados de la mediana sugieren que el queso artesanal en la dilución 10^2 y 10^3 tenía un menor número de colonias de levaduras en comparación con el queso industrial que tuvo un mayor número de colonias de levaduras.

c. Comparación de los resultados obtenidos con los estándares existentes microbiológicos de inocuidad permisivo para levaduras

En el cuadro N°18. Las 5 muestras de queso industrial analizados superaron ampliamente el valor estándar permitido de -10 UFC/mL y las muestras de queso artesanal también presentan recuentos de colonias de levaduras muy superiores al estándar permitido del (Reglamento técnico 16-377-99, 2001).

Ambos tipos de queso superan ampliamente el límite de -10 UFC/mL permitido por el reglamento, pero la carga fúngica es más alta en los quesos industriales, sugiriendo una posible necesidad de revisar y mejorar los procesos de producción y almacenamiento para ambos tipos de queso, con mayor énfasis en los quesos industriales.

La presencia de levaduras en altas cantidades en ambos tipos de quesos no es tan peligrosa para los seres humanos, pero si pueden ocasionar indigestión o gastroenteritis leves, además pueden ocasionar alteraciones en el queso haciendo que sea menos apetecible para su consumo (Frazier & Westhoff, 1994). Las características que poseen las levaduras les permiten proliferar y contaminar los alimentos lácteos que incluyen la fermentación y asimila la lactosa, la producción de enzimas proteolíticas extracelulares como lipasas, asimila el ácido láctico y cítrico, la capacidad de crecimiento a bajas temperaturas y la tolerancia a condiciones de alta

salinidad. (Restrepo and Montoya 2010). Las levaduras al metabolizar el ácido láctico, eleva el pH y fomenta el crecimiento de bacterias proteolíticas, las levaduras desempeñan un papel importante en el proceso de maduración de los quesos que no es el caso de este tipo de queso, que se consume fresco. (Restrepo and Montoya 2010).

CONCLUSIONES

Nuestra primera hipótesis partía del hecho de que las muestras de ambos tipos de quesos eran seguros para el consumo humano desde el punto de vista microbiológico, y podemos decir que no se cumplió. Los resultados de los recuentos mostraron una presencia elevada de carga microbiana en ambos tipos de quesos comercializado en la ciudad de Panamá, indicando que no cumplen con la calidad microbiana y seguridad óptima para el consumo humano debido a que infringen los reglamentos que establecen los requisitos microbiológicos de inocuidad y límites permisibles para coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras.

La presencia de estos microorganismos representa un riesgo significativo para la salud pública, ya que pueden transmitir enfermedades causadas por intoxicaciones o infecciones gastrointestinales.

Además, nosotros señalábamos que el queso tipo artesanal, tendría una carga microbiológica mucho más alta en comparación con el queso de tipo industrial. Sin embargo, los resultados de los análisis estadísticos confirmaron que en todas las muestras no existieron diferencias en el número de colonias de coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus*, hongos y levaduras, con referencia al promedio del recuento de las colonias entre ambos tipos de quesos, lo que sugiere un nivel de carga microbiana muy similar.

Al realizar la comparación de los resultados, los recuentos en ambos tipos de quesos presentaron valores que excedían los límites microbiológicos para coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, hongos y levaduras, según los reglamentos vigentes de referencia (Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16, 2003), y (Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17, 2018).

Los recuentos por encima de los límites de coliformes totales, *E. coli*, *S. aureus*, hongos y levaduras en las muestras de ambos tipos de quesos evidencian la deficiencia térmica o el uso de leche cruda. Así como fuertes indicios de prácticas de higiene inadecuadas durante la producción, manipulación y almacenamiento con temperatura y humedad inadecuada.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere para futuras investigaciones incluir y examinar indicadores microbiológicos como *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp, de acuerdo con el cumplimiento de las normativas nacionales e internacionales, como las establecidas por la FDA, EFSA y la Comisión del Codex Alimentarius.
- Se recomienda ampliar el número de muestras de quesos procesados para obtener resultados más representativos y aumentar las marcas de quesos industrial a fin de encontrar posibles patrones similares.
- Mantener buenas prácticas de manufactura e higiene en todas las etapas de producción del queso fresco.
- Ofrecer actualización frecuente por parte de un personal idóneo a los manipuladores sobre los riesgos de enfermedades causadas por patógenos.
- Mantener el control ambiental mediante monitoreos de temperatura y humedad para asegurar que se mantenga la cadena de frío del producto durante el transporte, almacenamiento de la materia prima y el producto final hasta los puntos de ventas para reducir el riesgo de contaminación.
- Realizar monitoreos microbiológicos constantes en la leche ordeñada, equipos, utensilios y producto final para asegurar el cumplimiento de las normas. Incluir análisis periódicos en las manos del personal para identificar y prevenir la propagación de patógenos.
- Que se realice la vigilancia por parte del ministerio de salud a cada lugar de producción de queso ya sea industrial y artesanal, así como en los lugares de ventas de manera constante para garantizar que mantengan los registros de controles de higiene y análisis microbiológicos de acuerdo con las normas existentes.
- Divulgar a las autoridades de salud los datos encontrados en este estudio para mejorar la calidad y seguridad para los consumidores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, A.-H., Saad, N. M., Velero, A., & Kamal, S. M. (2019). Incidence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in milk and Egyptian artisanal dairy products. *Food Control*, 104, 20-27. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.04.017>
- Alban, M. (2006). Elaboración de queso fresco a partir de una mezcla de leche de oveja y leche de vaca. *Universidad Técnica de Ambato*.
<https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/3362#>
- ANMAT. (1996). Guía de interpretación de resultados microbiológicos de alimentos.
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwid84ew5_uBAxXFTTABHcP-D-UQFnoECBMQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.argentina.gob.ar%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2Fanmatguia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf&usg=AOvVaw3dFakNs
- AOAC Método Oficial 2003.08. (2005). Recuento de *Staphylococcus aureus* en productos lácteos. *AOAC International*.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjXi-DPgfuBAxXBQjABHd2TAAEQFnoECAgQAQ&url=https%3A%2F%2Fmultimedia.3m.com%2Fmws%2Fmedia%2F1759932O%2Faoac-oma-2003-08-enumeration-of-staph-aureus-in-dairy-foods.pdf&usg=AOvVaw2JBtgpG>
- AOAC Método Oficial 991.14. (2002). Instructivo Técnico de Análisis/Ensayo para recuento de Coliformes y *E. coli* Mediante Técnica de Petrifilm.
<https://www.sag.gob.cl/sites/default/files/it-lab-16-v02.pdf>
- AOAC Metodo Oficial 997.02. (2005). Yeast and Mold Counts in Foods Dry Rehydratable Film Method (Petrifilm™ Method). *AOAC International*.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjG-46Y-fqBAxWWQzABHRHBDwQQFnoECBUQAQ&url=https%3A%2F%2Fmultimedia>

[a.3m.com%2Fmws%2Fmedia%2F17599270%2Faoac-oma-997-02-yeast-and-mold-counts-in-foods.pdf&usg=AOvVaw3cBtZPnVCDDC_joqxZsJ](https://www.researchgate.net/publication/353117599/figure/fig/175992702Faoac-oma-997-02-yeast-and-mold-counts-in-foods.pdf&usg=AOvVaw3cBtZPnVCDDC_joqxZsJ)

Arango, F. (2023). ISO 22000 para procesos de producción en la cadena de suministro de lácteos en Panamá. *Revista Global Negotium*, 6. <https://orcid.org/0009-0007-2700-6305>

Araúz, W., & Herrera, L. (2009). "Determinación de las enterotoxinas estafilocócicas (A,B,Cn, DEF y G) de *Staphylococcus aureus*, en queso blanco, molido y salado, mediante la técnica Tecra de Inmunoensayo Visual." Universidad de Panamá. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología.

Aravena, C., Cáceres, J., Bestías, A., Opazo, J. F., Magna, Y., Saralegui, C., Quintana, C., & Del-campo, R. (2021). Portación nasal, antibiograma y genotipo de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en estudiantes de Medicina y de Enfermería Campus San Felipe, Universidad de Valparaíso, Chile, durante el año 2017. *Rev. chil. infectol.*, 38. <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182021000600774>

Ares, J. (2002). CALIDAD DE LOS QUESOS: FUNDAMENTOS Y ASPECTOS GENERALES. *RACVAO*, 15, 133-154.
https://www.researchgate.net/profile/Miguel-A-Quiroga/publication/49292443_Retencion_placentaria_en_la_vaca_lechera_Su_relacion_con_la_nutricion_y_el_sistema_inmune/links/572b49a108aef5d48d3275b5/Retencion-placentaria-en-la-vaca-lechera-Su-relacion-con-la

Arévalo, M. (2014). *Determinación de la actividad de agua y Ph y su relación en la actividad microbiológica de queso que se expende en el mercado central de Machala*. Universidad Técnica de Machala. Machala -Ecuador.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjSk5H7oZOFaxVGSzABHfnHBMoQFnoECB4QAQ&url=http%3A%2F%2F repositorio.utmachala.edu.ec%2Fhandle%2F48000%2F2866&usg=AOvVaw3rGwJ0x44fZLcu9nhh8fjV&>

Arguello, P., Lucero, O., Castillo, G., Escobar, S., Albuja, A., & Gallegos, J. (2016). Calidad microbiológica de los quesos artesanales elaborados en zonas rurales de

- Riobamba (Ecuador). *Revista Perspectiva.*, 16, 65-74.
<https://revistas.upagu.edu.pe/index.php/PE/article/view/376>
- Arizcun, C. (1995). *Caracterización microbiológica de los quesos con denominación de origen roncal e idiazabal elaborado en Navarra*. Universidad pública de Navarra.
- Armas, Y. F., Amaya, M. A., & Alemán, Y. R. (2020). Evaluation of the hygienic-sanitary quality of artisan fresh cheeses in Mayabeque province. *SciELO*, 42(Rev Salud Anim).
- Asamblea Legislativa, Decreto de Gabinete número 229. (1970). *Gaceta Oficial, Órgano del Estado 16537 por el cual se dictan algunas disposiciones relacionado con el aspecto sanitario de la calidad de la leche y productos lacteos*.
<https://docs.panama.justia.com/federales/decretos-de-gabinete/decreto-de-gabinete-229-de-1969-feb-4-1970.pdf>
- Astuñaupa, F. O. (2021). EVALUACIÓN DE COLIFORMES EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES QUE SE EXPENDEN EN EL DISTRITO DE YAULI.
Universidad Nacional de Huancavelica.
- Barrios, H. X. (2006). *Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA.
- Binetti, A., Carrasco, M., Reinheimer, J., & Suárez, V. (2013). Yeasts from autochthonal cheese starters: technological and functional properties. *J Appl Microbiol*, 115, 434-444. <https://doi.org/10.1111/jam.12228>
- Bintsis, T., & Angelidis, A. (2008). Prácticas modernas de laboratorio: análisis de productos lácteos. *Ciencia y Tecnología Lechera Avanzada*, 183-261.
<http://dx.doi.org/10.1002/9780470697634.ch6>
- Biurrun, C. A. (1995). Caracterización microbiológica de los quesos con denominación de origen roncal e idiazabal elaborados en Navarra. *UNIVERSIDAD PÚBLICA DE*

NAVARRA, 11-13. https://academic-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/28626/Tesis_ArizcunBiurrun.pdf?sequence=4

Bokulich, N. A., & Mills, D. A. (2013). Facility-Specific “House” Microbiome Drives Microbial Landscapes of Artisan Cheesemaking Plants. *ASM Journal. Applied and Environmental Microbiology*, 79. <https://doi.org/10.1128/AEM.00934-13>

Brito, J. R. F., Santos, E. M. P., Arcuri, E. F., Lange C., C., Brito, M. A., Souza, G. N., Cerqueira, M. M., Beltran, J., M. S., Call, JE, L. Y., Porto-Fett, A., & Luchansky, J. B. (2008). Retail Survey of Brazilian Milk and Minas Frescal Cheese and a Contaminated Dairy Plant To Establish Prevalence, Relatedness, and Sources of *Listeria monocytogenes* Isolates. *Appl Environ Microbiol*, 74. <https://doi.org/10.1128/AEM.01828-07>

Brooks, J. C., Martinez, B., Stratton, J., Bianchini, A., Krokstrom, R., & Hutkins, R. (2012). Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. *Food Microbiol.*, 31. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.03.013>

CAC/GL 21. (2013). PRINCIPIOS Y DIRECTRICES PARA EL ESTABLECIMIENTO Y LA APLICACIÓN DE CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS RELATIVOS A LOS ALIMENTOS. (Food and Agriculture Organization), 1-7. <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwj95N3NxPmBAxVNSTABHQ1KCU4QFnoECAgQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.fao.org%2Ffao-who-codexalimentarius%2Fsh-proxy%2Fes%2F%3Flnk%3D1%26url%3Dhttps%25253A%25252F%25252Fworkspac>

Cadena, A. F., Augusto, C., Mendoza, R., & Montoya, C. (2018). Síndrome de choque tóxico por *Staphylococcus aureus*. *An Med (Mex). Medigraphic*, 63. <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjtbC8lfqEAXVmczABHZOpCBsQFnoECBEQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.medigraphic.com%2Fpdfs%2Fabc%2Fbc-2018%2Fbc182k.pdf&usg=AOvVaw3T6zjmSFxfrf-7NL7Vn3sQ&opi=89978449>

- Cadena Agroalimentaria Producto de Leche. Panamá. (2021). *Producción de leche en Panamá a buen ritmo de crecimiento*. Gobierno Nacional. Ministerio De Desarrollo Agropecuario. <https://mida.gob.pa/2021/09/01/produccion-de-leche-en-panama-a-buen-ritmo-de-crecimiento/>
- Camargo, A. C., De Araújo, J, P. A., Fusiege, A., De Carvalho, A. F., & Nero, L. A. (2021). Calidad microbiológica e inocuidad de los quesos artesanales brasileños. *Braz J Microbiol. National Library of medicine.*, 52, 393-409. 10.1007/s42770-020-00416-9.
- Candelaria, J., & Cecilia, J. (2009). "Evaluación de la calidad microbiológica de los quesos frescos expendidos en dos establecimientos en Penonomé". *Universidad de Panamá, Facultad de Ciencias Naturales Exactas y Tecnología*.
- Carver, K. M., Silbernagel, R. P., Jechorek, & Charles, N. (2003). 3MTM Petrifilm™ Método de placa de conteo rápido de estafilococos para elEnumeración de Staphylococcus aureus en alimentos lácteos seleccionados:Estudio colaborativo. *AOAC INTERNATIONAL*, 86. https://www.researchgate.net/publication/8996379_3M_Petrefilm_Staph_Express_Count_plate_method_for_the Enumeration_of_Staphylococcus_aureus_in_selected_dairy_foods_Collaborative_study
- Castellanos, J., Pérez, R., & Gálvez, A. (2020). Biodiversidad bacteriana del queso Paipa, selección de bacterias ácido lácticas y caracterización de sus compuestos antibacterianos. *Departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad de Jaén*. https://ruja.ujaen.es/bitstream/10953/1145/1/CASTELLANOS_ROZO_TESIS.pdf
- Castillo, S., & Glenda, E. (2013). Prevalencia de Bacterias Patógenas Listenia monocytogenes y Staphylococcus, en Quesos Frescos Elaborados Artesanalmente en las Parroquias Rurales del Cantón Riobamba. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo*. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2614>
- Castro, G., Castañeda, E., Martínez, Á. R., & Ortega, A. (2013). Caracterización de la microbiota nativa del queso Oaxaca tradicional en tres fases de elaboración. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 33.

https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562013000200004

- Cepida, G. (2022). *CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES EXPENDIDOS EN EL DISTRITO DE HUANCAVELICA, 2022*.
<https://apirepositorio.unh.edu.pe/server/api/core/bitstreams/6abfd5c1-fefa-4a4f-ac5b-f630a54a768a/content>
- Chaves, M. R. (2006). Planta Procesadora de Lácteos en San José Pinula. *Universidad Rafael Landívar. Vista Hermosa, Guatemala*.
https://www.academia.edu/34271143/Planta_Procesadora_de_L%C3%A1cteos
- Chavez, G. N. (2016). ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO AL QUESO FRESCO QUE SE EXPENDE EN EL MERCADO “MI MERCADO” DE LA CIUDAD DE AREQUIPA DE ACUERDO CON LAS NORMAS ESTABLECIDAS POR DIGESA – AREQUIPA 2016. *FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA SALUD. Universidad Alas Peruanas*.
https://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12990/4143/Tesis_An%C3%a1lisis_Microbiol%C3%B3gico_Queso_Fresco.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Choi, k. H., Lee, H., Lee, S., Kim, S., & Yoon, Y. (2016). Cheese Microbial Risk Assessments - A Review. *Asian-Australas J Anim Sci.*, 29, 307-314.
<https://doi.org/10.5713%2Fajas.15.0332>
- Cirne, C. T., Tunick, M. H., & Trout, R. T. (2019). Las diferencias químicas y actitudinales entre los productos comerciales y los artesanales. *NPJ Sci Comida*.
<https://doi.org/10.1038%2Fs41538-019-0053-9>
- Cobos, F., Villamarín, J., Izquierdo, J., Rivera, D., & Gómez, J. (2023). Manual para la elaboración de quesos. *Universidad Técnica de Babahoyo*.
<https://libros.utb.edu.ec/index.php/utb/catalog/view/101/67/262>
- Croxen, M. A., Law, R. J., Scholz, R., Keeney, K. M., Wlodarska, M., & Finlay, B. B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev.*, 26. <https://doi.org/10.1128%2FCMR.00022-13>

- Cuellar, D. (2015). Verificación del método para la enumeración y confirmación de *Staphylococcus aureus* en Petrifilm™ Microbiología de Alimentos de Zamorano. *Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras*, 1-2.
<https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/200328aa-a093-4625-a402-af79c92784e0/content>
- D'amico, D. J., & Donnelly, C. W. (2011). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk utilized in small-scale artisan cheese production. *J Food Prot.*, 74. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-10-533>
- Deheco, A. (2006). *CONTAMINACION CONSERVACION Y ALTERACIONES DE LA LECHE Y PRODUCTOS LACTICOS*. UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL FACULTAD DE INGENIERIA INDUSTRIAL Y DE SISTEMAS MICROBIOLOGIA DE LA LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS PARTE I.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiJ7sCavrmIAxUURzABHdWnAd4QFnoECBYQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.studocu.com%2Fgt%2Fdocument%2Funiversidad-de-san-carlos-de-guatemala%2Fmicrobiologia%2F28921413-microbiologia-de-la-leche-y>
- Delgado, R. L., & Torres, D. J. (2003). Bacteriological assessment of fresh artisan cheeses sold in Lima, Peru, and the presumed bactericidal action of *Lactobacillus* spp. *Rev Panam Salud Pública. Universidad Peruana Cayetano Heredia*, 14, 158-164.
<https://iris.paho.org/handle/10665.2/8334>
- Díaz-Rivero, C., & Gonzales de García, B. (2001). *Staphylococcus aureus* EN QUESO BLANCO FRESCO Y SU RELACIÓN CON DIFERENTES MICROORGANISMOS INDICADORES DE CALIDAD SANITARIA. *RESPYN*, 2.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiyhZjImraFAxWBr4QIHc3qD5kQFnoECBwQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.medigraphic.com%2Fcgi-bin%2Fnew%2Fresumen.cgi%3FIDARTICULO%3D23155&usg=AOvVaw2ABgF6F0AFdtsTNU4tqdh&opi=899>

- Didienne, R., Defargues, C., Callon, C., Meylheuc, T., Hulin, S., & Montel, M. C. (2012). T1 - Characteristics of microbial biofilm on wooden vats ('gerles') in PDO Salers cheese. *International Journal of Food Microbiology*, *156*, 91-101. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.007>
- D'Incecco, P., Limbo, S., Hogenboom, J., & Pellegrino, L. (2021). Nuevas tecnologías para prolongar la vida útil de la leche de consumo: conceptos, tendencias de investigación y aplicaciones actuales. *LWT Ciencia y tecnología de los alimentos. Departamento de Ciencias de la Alimentación, Ambientales y Nutricionales, Universidad de Milán, Milán, Italia*, *148*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111746>
- Dinges, M. M., Orwin, P. M., & Schlievert, P. M. (2000). Exotoxinas de *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Rev.*, *13*, 16-34. <https://doi.org/10.1128%2Fcmr.13.1.16-34.2000>
- División de Salud Pública de Carolina del Norte. (2009). Hoja informativa sobre las bacterias coliformes en los pozos de agua privada. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjL6r2U9L2FAXXztoQIHULcC_wQFnoECB4QAQ&url=https%3A%2F%2Fepi.dph.ncdhhs.gov%2Foe%2Fdocs%2Fas_bacterias_coliformes_wellwaterfactst.pdf&usg=AOvVaw3QRBtSnMVc-pcQp8aq11N
- Doyle, M., & Beuchat, L. (2007). *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. ASM Press.
- Escobar, A., Sánchez, A., & Quirasco, M. (2016). Metagenomic analysis of a Mexican ripened cheese reveals a unique complex microbiota. *Food Microbiology*, *57*, 116-127. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.02.004>
- Espinoza, C., & Martínez, Z. (2002). "LA IMPORTANCIA DEL GRUPO: ALIMENTOS, SUBGRUPO: PRODUCTOS LÁCTEOS, PRODUCTO: QUESO FRESCO, EN LA DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE INFLACIÓN EN EL GRAN SAN SALVADOR". (Universidad Tecnológica El Salvador), Capítulo III. <https://biblioteca.utec.edu.sv/siab/virtual/auprides/11785.htm>

- Even, S., Charlier, C., Nouaille, S., Ben Zakour, N., Cretenet, M., Cousin, F., Gautier, M., Coccagn-Bousquet, M., Loubière, P., & Le Loir, Y. (2009). Staphylococcus aureus virulence expression is impaired by Lactococcus lactis in mixed cultures. *Appl Environ Microbiol.*, 75, 4459–4472. 4459–4472
- FAO. (1999). Comité del CODEX sobre la leche y los productos lácteos, definiciones tratamientos térmicos. *Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura*.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKewjXkLHwpJOFAxXCSTABHQCCD5gQFnoECBIQAw&url=https%3A%2F%2Fwww.fao.org%2Ffao-who-codexalimentarius%2Fsh-proxy%2Fen%2F%3Flnk%3D1%26url%3Dhttps%25253A%25252F%25252Fworkspace.fao.org%25252>
- FAO/OMS. (2020). Leche y productos lácteos. Tipos y características. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS)*. <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/tipos-y-caracteristicas/es/>
- FAO/OMS. (2020). Leche y productos lácteos Tipos y características. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS)*. <https://www.fao.org/dairy-production-products/products/tipos-y-caracteristicas/es/>
- Farrokh, C., Jordan, K., Auvray, F., Glass, K., Oppegaard, H., Raynaud, S., Thevenot, D., Condron, R., De Reu, K., Govaris, A., Heggum, K., Heyndrickx, M., Hummerjohann, J., & Lindsay, D. (2013). Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *International Journal of Food Microbiology*, 162.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.08.008>
- Feijoó, A., Pinos, S., & Ortiz, T. (2023). Identificación de *Staphylococcus aureus* a partir de queso fresco expandido en mercados y centros comerciales de la ciudad de

Cuenca. *Anatomía Digital*, 6, 103-118.

<https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i3.3.2708>

Fernández, N., & Hernández, G. J. (2006). Metodo de ensayo rápido de detección de microorganismos en la leche. *REDVET*.

https://www.researchgate.net/publication/26438719_Metodos_de_ensayos_rapidos_de_deteccion_de_microorganismos_en_la_leche_Methods_of_quick_rehearsals_of_detection_of_microorganisms_in_the_milk

Ferreccio, J. P., & Medrano, J. I. (2010). Pasteurizadora para micro productores lecheros. *UBA - Facultad de Arquitectura Diseño y Urbanismo, Buenos Aires*.

<https://core.ac.uk/outputs/35122833?source=oai>

Food and Drugs Administration, Department, of Health and Human Services. (2019). Department, of Health and Human Services. Grade A Pasteurized Milk Ordinance.

USPHS/FDA. <https://www.fda.gov/media/140394/download>

Fox, P. F., Guinne, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). Fundamentals of Cheese Science. *Springer New York*.

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi0gejG-eeEAxVmorAFHeHoCe8QFnoECBAQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Fprofile%2FAtef-Abou-El-Nour%2Fpublication%2F286119901_CHEESES_Processed_Cheese%2Flinks%2

Frazier, W. C., & Westhoff, D. C. (1994). *Microbiología de los alimentos* (4.a Edición española ed.). Editorial ACRIBIA, S.A.

Garcia, D. (2000). PRESENCIA DE BACTERIAS COLIFORMES EN QUESOS FRESCOS DE LECHE DE VACA EN DIFERENTES FASES DE PRODUCCION ELABORADOS ARTESANALMENTE EN EL MUNICIPIO DE SAN JOSE PINULA. *UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA*.

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjB9471972FAxWBSjABHTjxC2wQFnoECBwQAQ&url>

<http://www.repositorio.usac.edu.gt/5466/1/Tesis%20Mater.pdf>&usg=AOv

García, G. S., Fresno, J. M., Virto, M., Amores, G., & Aranceta, J. (2020). La microbiota del queso y su importancia funcional. *Rev Esp Nutr Comunitaria*, 26, 2.

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwj5oe6b9ueEAxVqRTABHUxVCVYQFnoECCYQAQ&url=https://www.renc.es/2Fimagenes/2Fauxiliar/2Ffiles/2FRENC2020_4_10._-RENC-D-20-0037.pdf&usg=AOvVaw3q-cjtW9YnaC5vGup3z0R

Garrido-Lestache, S. C. (2018). Estudio de la población de levaduras en quesos de pasta blanda de extremadura. *Universidad de Extremadura*.

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjv2pKCve-FAxV_SzABHTJ2Bes4ChAWegQIEBAB&url=https://dehesa.unex.es/2Fbitstream/2F10662/2F7607/2F1/2FTFGUEX_2018_Sahelices_Garrido-Lestache.pdf&usg=AOvVaw0ZtOWdhH

Genesis. (2015). Guía para la elaboración de quesos.

https://www.academia.edu/36185929/GU%C3%8DA_PARA_LA_ELABORACI%C3%93N_DE_QUESOS

Gomez, M. (2005). Tecnología de los lácteos. *Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD*. <https://es.slideshare.net/luissslgm/m-tecnologia-de-lacteos>

Gonzales, C., & Puente de la Vega, R. (2017). *GUÍA PARA ELABORAR UN MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA (BPM) Y PROGRAMA DE HIGIENE Y SANEAMIENTO (PHS) PARA PEQUEÑOS PRODUCTORES DE QUESO FRESCO*. DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD AMBIENTAL E INOCUIDAD ALIMENTARIA-DIGESA.

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwj9qOj877uIAxUJRjABHW4sDDgQFnoECCIQAQ&url=https://bvs.minsa.gob.pe/local/FMINSA/2F4157.pdf>&usg=AOvVaw0anLr_Bt3QF-qx6bK12TjO&opi=89978449

- González, M. (2002). "Tecnología para la Elaboración de Queso Blanco, Amarillo y Yogurt". *SNACIYT, AMPYME*.
https://www.academia.edu/4598259/Tecnolog%C3%ADa_para_la_Elaboraci%C3%B3n_de_Queso_Blanco_Amarillo_y_Yogurt_Expositor_Lic_Manuel_Gonz%C3%A1lez_Villarreal_Licenciado_en_Qu%C3%ADmica
- González, I., Rabaquino, L., & Rodríguez, G. (2017). Uso de Optigraph para estimar capacidad coagulativa de leche de vaca en un rodeo comercial. *FYET. Universidad de la República Uruguay*.
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwinssuE14uFAxW_SDABHdSfCsAQFnoECCcQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.colibri.udelar.edu.uy%2Fjspui%2Fbitstream%2F20.500.12008%2F24969%2F1%2FFV-33038.pdf&usg=AOvVaw1bPJyecJxEwmQ
- Gotfried, J., & Katz, L. (2023). Intoxicación alimentaria por estafilococos. *School of Medicine at Temple University*. <https://www.msmanuals.com/es/hogar/trastornos-gastrointestinales/gastroenteritis/intoxicaci%C3%B3n-alimentaria-por-estafilococos>
- Gould, L. H., Mungai, E., & Behravesh, C. V. (2014). Outbreaks Attributed to Cheese: Differences Between Outbreaks Caused by Unpasteurized and Pasteurized Dairy Products, United States, 1998–2011. *Foodborne Pathog Dis*, 11, 545-551.
<https://doi.org/10.1089%2Ffpd.2013.1650>
- Guaraca, E. C., & Guaraca, L. A. (2019). Guía técnica para la pasteurización de la leche. *Universidad de Cuenca*.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwi88KLL15CFaxUFgoQIHboeDoIQFnoECCQQAQ&url=http%3A%2F%2Fdspace.ucuenca.edu.ec%2Fbitstream%2F123456789%2F33798%2F2%2FGu%25C3%25ADa%2520T%25C3%25A9cnica%2520del%2520proceso%2520de%2520P>
- Guerrero, A. (2023). Cómo llega la bacteria 'E. coli' al queso y qué puedes hacer para evitar la contaminación. *CuidatePlus*.

- Guerrero, D. (1995). Coagulación láctica inducida por enzimas del cuajo de llama (Loma glama). *Ciencia y Desarrollo*. <https://doi.org/10.33326/26176033.1995.2.42>
- Guerrero, J. A. (2015). INFORME FINAL DEL EVENTO ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS, COLOMBIA, 2015. *Instituto Nacional de Salud*, 1-17.
<https://www.bing.com/ck/a?!&&p=7921722fb5899b9bJmltdHM9MTcxODY2ODgwMCZpZ3VpZD0wMTgxNjlkNC02ZjhkLTY1ZmMtMTc3ZS03ODAyNmVIMTY0N2EmaW5zaWQ9NTIwMA&ptn=3&ver=2&hsh=3&fclid=018169d4-6f8d-65fc-177e-78026ee1647a&psq=Informe+final+del+evento+enfermedades+transmitida>
- Guía de Interpretación Staph Express 3M Petrifilm. (2007). Placas Petrifilm Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus*.
<https://multimedia.3m.com/mws/media/467012O/3m-petrefilm-staph-express-interpretation-guide-spanish.pdf>
- Guide Interpretation REC 3M Petrifilm. (2017). REC. Rapid E. coli/coliformes Count Plate.
- Guide Interpretation RYM 3M Petrifilm. (2017). Rapid Yeast and Mold count plate.
- Gutiérrez, M. G., Salah, T., Andueza, F., & Lugo, Á. (2021). CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LECHE PASTEURIZADA COMERCIALIZADA EN SUPERMERCADOS DE MÉRIDA-VENEZUELA. *ACTA BIOCLINICA*. *Departamento de Bionálisis Clínicos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes., 11*. DOI: <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.14200553>
- Guzman, R., Contreras, A., Hernandez, R., Perez, I., Lopez, A., Zaidi, M., & Estrada, T. (2016). Mexican unpasteurised fresh cheeses are contaminated with *Salmonella* spp., non-O157 Shiga toxin producing *Escherichia coli* and potential uropathogenic *E. coli* strains: A public health risk. *International Journal of Food Microbiology*, 237, 10-16. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.018>
- Hayaloglu, A., & kirbag, S. (2007). Microbial quality and presence of moulds in Kuflu cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 115, 376-380.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.12.002>

Hernández, A. (2002). *Microbiología Industrial* (1st ed.). Editorial Universidad Estatal a Distancia.

INDO. (1986). Inventario de quesos artesanos de España. *Dir. Gral. Pol. Alim. MAPA*.
https://www.researchgate.net/profile/Miguel-A-Quiroga/publication/49292443_Retencion_placentaria_en_la_vaca_lechera_Su_relacion_con_la_nutricion_y_el_sistema_inmune/links/572b49a108aef5d48d3275b5/Retencion-placentaria-en-la-vaca-lechera-Su-relacion-con-la

Instituto Nacional de Salud. (2011). *Imprenta Nacional de Colombia*.

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi71NizvoCFAXU1sTEKHAYSAhkQFnoECBQQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.minsalud.gov.co%2Fsites%2Frid%2FLists%2FBibliotecaDigital%2FRIDE%2FIA%2FINS%2FEl-listeria-en-lpc.pdf&usg=AO>

ISO 6887-1. (2002). MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS DE CONSUMO HUMANO Y ANIMAL. PREPARACION DE LA MUESTRA DE ENSAYO, LA SUSPENSION INICIAL Y LAS DILUCIONES DECIMALES PARA PRUEBAS MICROBIOLOGICAS PARTE 1: REGLAS GENERALES PARA LA PREPARACION DE LA SUSPENSION INICIAL LAS DILUCION. *Oficina Nacional de Normalización (NC)*.

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwiD3p2Ak_mEAXW5mIQIHbpqA48QFnoECBAQAQ&url=https%3A%2F%2Fftp.isdi.co.cu%2FBiblioteca%2FBIBLIOTECA%2520UNIVERSITARIA%2520DEL%2520ISDI%2FCOLECCION%2520DIGITAL%2520DE%2520NORMAS%2520CUBA

Jafar, S. M., & Zohreh, H. S. (2015). The Determination of Contamination Rate of Traditional White Cheese in Behbahan Markets to Coliforms and Pathogenic Escherichia Coli. *WASET*, 2. <https://sanad.iau.ir/en/Article/969003>

Johler, S., Weder, D., Bridy, C., Huguenin, M. C., & Luce, R. (2015). Outbreak of staphylococcal food poisoning among children and staff at a Swiss boarding school

- due to soft cheese made from raw milk. *J. Dairy Sci. American Dairy Science Association.*, 98, 2944-2948. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-9123>
- Juárez, M. A., Moscoso, B., Hernández, J. A., Mérida, M., Samayoa, L., Juárez, G., & Gamboa, K. (2011). Buenas manufacturas prácticas en la elaboración de productos lácteos. In (Rubí López ed.). *La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO)*.
- Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P., & Drosinos, E. H. (2010). Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*, 21, 805-815. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.11.015>
- Kumar, A., & Patyal, A. (2024). 5 - An insight on microbial flora of milk and milk products. *Developments in Microbiology. The Microbiology, Pathogenesis and Zoonosis of Milk Borne Diseases.*, 69-94. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-13805-8.00004-1>
- Kure, F. C., Skaar, I., & Brendehaug, J. (2004). Mould contamination in production of semi-hard cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 93, 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.10.005>
- Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). Staphylococcus aureus e intoxicación alimentaria. *Genet Mol Res*, 2, 63-76. PMID: 12917803.
- LIPA. (2020). Introducción a la elaboración de quesos. *FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES*. <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwji2u7CwJCFaxUrSDABHbhFDmsQFnoECBwQAQ&url=https%3A%2F%2Flipa.agro.unlp.edu.ar%2Fwp-content%2Fuploads%2Fsites%2F29%2F2020%2F03%2FGuia-QUESOS.pdf&usg=AOvVaw3A30xRfJk0tnJ>
- Lobos, I. O., & Pávez, P. A. (2021). Manual de Quesos para pequeñas queserías de la región de Los Ríos. Capítulo 2: Etapas y procesos generales en la elaboración de quesos en el sur de Chile. *Boletín INIA - Instituto de Investigaciones Agropecuarias*.

<https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/67574/Capitulo%202.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

- López, B., Rojas, S., & Rodríguez, G. (2020). Determinación de concentración peptídica total y actividad antioxidante en queso panela a base de leche de vaca y cabra. *Food. Processing and Engineering Topics*, 5, 327-331.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwilpeDAs-WEAxUBQTABHf1yBWUQFnoECBIQAQ&url=http%3A%2F%2Fwww.fcb.uanl.mx%2FIDCyTA%2Ffiles%2Fvolume5%2F5%2F5%2F64.pdf&usg=AOvVaw0AZ2dz45BSdArMc4xhYGyV&opi=89978449>
- López, B. E., & Veintimilla, E. (2019). *Evaluación de la calidad microbiológica de quesos frescos comercializados en un mercado de la provincia del Guayas y producidos en una quesera artesanal de la provincia de Chimborazo*. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/9716>
- Luigi, T., Rojas, L., & Valbuena, O. (2013). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expandida en el estado Carabobo, Venezuela. *Redalyc. Salus, Universidad de Carabobo Venezuela.*, 17, 25-33.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375933972006>
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., S, K., Buckley, D. H., & Stahl, D. A. (2015). *Brock. Microbiología de los microorganismos* (14th ed.). Prentice Hall-Pearson Education.
- Martínez, A. M., & Rosenberger, M. R. (2013). Modelado numérico de pasteurización artesanal de leches y jugos naturales. *Asociación Argentina de Mecánica Computacional*.
https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/8467/CONICET_Digital_Nro.11276.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- MEFCCA. (n.d.). *BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA, APOORTE NUTRICIONAL, PARÁMETROS Y GESTIÓN DE CALIDAD DURANTE EL PROCESAMIENTO DE PRODUCTOS Y SUBPRODUCTOS A BASE DE LECHE*.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja>

<https://www.economia.familiar.gob.ni/backend/vistas/doc/cartilla/documento6724205.pdf&usg=AOvVaw2jbdps9pPMpYsz1>

- Mejía, F., Castro-del Campo, N., García, A., Rodríguez, K., Cornejo, H., Ahumada-Ruiz, S., Soto-Beltran, M., Castillo, M., Querol-Audi, J., Chaidez-Quiroz, C., & Martínez-Torres, A. O. (2021). Prevalence and Characterization of Antibiotic-Resistant *Staphylococcus aureus* Recovered from Pasteurized Cheese Commercialized in Panama City Markets. *Journal of Food Quality*, (Simonne, Academic Editor: Amarat (Amy). Laboratory of Experimental and Applied Microbiology, University of Panama.), 1-7. <https://doi.org/10.1155/2021/9923855>
- Merchan, C., Gómez, P., Cárdenas, A., Gónzales, N., Órtalora, M., & Sánchez, Y. (2018). Microorganisms commonly reported as causing diseases transmitted by fresh cheese in the Americas, 2007-2016. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 56(ECIMED, Universidad de Boyacá, Tunja, Boyacá, Colombia.). <https://revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171/260>
- Merchán, N., Zurymar, S., Niño, L., & Urbano, E. (2019). Determination of the microbiological safety of artisanal cheeses according to Colombian technical standards. 46(*Revista chilena de nutrición*).
- Ministerio de Salud. (2019). BOLETÍN EPIDEMIOLÓGICO SEMANAL. Semana N° 52. https://minsa.gob.pa/sites/default/files/publicacion-general/boletin_epidemiologico_sem_52_2019.pdf
- MINSALUD. (2015). Perfil de riesgo de *Escherichia coli*.
- Mohamed, Z., Byju, G., Barbara, R., Todd, C., & Shyam, S. (2018). Monitoreo de la vida útil de la leche entera pasteurizada. En condiciones de almacenamiento refrigerado: Modelos predictivos de pérdida de calidad. *Revista de ciencia de los alimentos*, 00.
- Montanhini, M. M. T. (2021). Consideraciones sobre mohos y levaduras en quesos. *MilkPoint*. <https://www.milkpoint.com.br/colunas/maike-tais-maziero-montanhini/consideracoes-sobre-bolores-e-leveduras-em-queijos-224134/>

- Montel, M. C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N., & Berthier, F. (2014). Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits. *Food Microbiol*, *177*, 136-154.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.02.019>
- Montero, P. (2022). Calidad y seguridad de la leche cruda de vaca producida en Panamá. *Revista de I+D Tecnológico*, *18*(Universidad Tecnológica de Panamá, Panamá).
<https://doi.org/10.33412/idt.v18.1.3480>
- Morán, A. (2014). Análisis de la Microbiología de superficies y ambientes, un problema real en la Industria Alimentaria. *FARESTAIE*.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiE6eHk2OeFAxWOQzABHeEPDigQFnoECA4QAw&url=https%3A%2F%2Fwww.farestaie.com.ar%2Fnovedades%2Fpacientes%2F833-analisis-de-la-microbiologia-de-superficies-y-ambientes-un-p>
- Moreano, N., Arias, G., Martínez, E., & Ceballos, E. (2024). Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal: un enfoque en la seguridad alimentaria y la preservación de métodos tradicionales. *Reincisol*, *3*, 2443-2468. [https://doi.org/10.59282/reincisol.V3\(6\)2443-2468](https://doi.org/10.59282/reincisol.V3(6)2443-2468)
- Moreno, R. (1988). *Defecto y alteraciones de los quesos*. Dirección General de Investigación y Extensión Agraria.
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi859yfxKWIAxWDkIQIHx43PeoQFnoECCUQAQ&url=https%3A%2F%2Fjuntadeandalucia.es%2Fexport%2Fdrupaljda%2F1337170108-Defectos_y_Alteraciones_de_los_Quesos.pdf&usg=AOvVaw1Usk0Oz
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfäuer, M. (2006). *Microbiología Médica* (5 edición ed.). Elsevier España.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjyoo-RldKIAxWCVTABHctcIHsQFnoECBQQAQ&url=https%3A%2F%2Fdiagnostico>

dentofacial.com.mx%2Fassets%2Fpdf%2Flibros%2FPMurrayMicrobiologiaMedica.pdf&usg=AOvVaw3qx3B0C3eGWRLfM

Nerín, C., Aznar, M., & Carrizo, D. (2016). Food contamination during food process.

Trends in Food Science & Technology, 48, 63-68.

<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.004>

NOM-111-SSA1. (1994). Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. *NORMA Oficial Mexicana*.

https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.tab=0

Norma Oficial Mexicana NOM-223-SCFI/SAGARPA. (2019). Queso-Denominación, especificaciones, información comercial y métodos de prueba. *Estados Unidos Mexicanos. - Secretaría de Salud*.

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwirsJrdjeaEAXrQzABHSN1C10QFnoECCkQAQ&url=https%3A%2F%2Fsidof.segob.gob.mx%2Fnotas%2F5549319&usg=AOvVaw0GM1WJ5iahuwrkcbNkpKrz&opi=89978449>

NTE INEN 4. (2013). *Leche y productos lácteos. Muestreo*.

<https://archive.org/details/ec.nte.0004.1984/mode/2up>

NTE INEN 1528. (2012). *Norma general para quesos frescos. Requisitos*. (Primera edición ed.). Tecnología de los alimentos, leche y productos lácteos, queso fresco no madurado, requisitos.

<https://ia903209.us.archive.org/0/items/ec.nte.1528.2012/ec.nte.1528.2012.pdf>

NTE INEN 1529-2. (1999). Control Microbiológico de los alimentos, Toma, Envío y Preparación de muestras Para el Análisis Microbiológico. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*. <https://es.slideshare.net/egrandam/nte-inen-1529-2>

Nunes, R., Souza, C., Pereira, K., & Mare Del Aguila, E. (2016). Identification and molecular phylogeny of coagulase-negative staphylococci isolates from Minas Frescal cheese in southeastern Brazil: Superantigenic toxin production and

- antibiotic resistance. *Journal of Dairy Science*, 99, 1-13.
<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2015-9693>
- OMS. (2020). *Inocuidad de los alimentos*. Organización mundial de la salud.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
- OMS. (2023). *Micotoxinas*. Organización mundial de la salud.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>
- Organización interprofesional láctea. INLAC. (2018). *Propiedades nutricionales del queso. Es Queso*. <https://esqueso.es/las-propiedades-nutricionales-del-queso>
- Orrellana, Z., & Tamara, B. (2020). Detección de *Staphylococcus aureus* en queso fresco artesanal comercializado en el mercado municipal de Sauces IX de la ciudad de Guayaquil. (Universidad Agraria de Ecuador).
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiL8dHWs6yFAxWyRjABHY7-DfQQFnoECBsQAQ&url=https%3A%2F%2Fcia.uagraria.edu.ec%2FArchivos%2FORELLANA%2520ZAPATA%2520LISSETTE%2520DAYANARA.pdf&usg=AOvVaw1zny1UIUQNMiKor692>
- Ortellado, L., Rojas, A., & Fernandez, F. (2015). Fermentación del queso.
https://www.academia.edu/14961585/El_queso
- Padilla, B., Belloch, C., Díez-López, J., & Flore, M. (2014). Potential impact of dairy yeasts on the typical flavour of traditional ewes' and goats' cheeses. *International Dairy Journal*, 35, 122-129. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.11.002>
- Pahissa, A. (2009). *Infecciones producidas por Staphylococcus aureus* (1 ed. ed.). ICG Marge, SL.
<https://books.google.com.ec/books?id=qFRukXHQX6QC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>
- Parras, R. (2009). LACTOSUERO: IMPORTANCIA EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS. *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellin*, 62, 4967-4982.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ah>

[UKEwjTpruSsZOFaxUlk4QIHTH2CcgQFnoECA8QAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.redalyc.org%2Fpdf%2F1799%2F179915377021.pdf&usg=AOvVaw12BZwdS_xFtfueE3Ep2XOg&opi=89978449](https://www.redalyc.org/pdf/1799/179915377021.pdf&usg=AOvVaw12BZwdS_xFtfueE3Ep2XOg&opi=89978449)

Pedroza, C. (2017). Detección de bacterias patógenas durante el proceso de elaboración de queso artesanal producido a partir de leche sin pasteurizar bajo buenas prácticas de manufactura en la región de Cobachi: Sonora. (Universidad de Sonora).

<http://hdl.handle.net/20.500.12984/2257>

Perdomo, C., Gutiérrez, F., García, O., Acevedo, I., Bastidas, Z., & Kowalski, A. (2015). CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y BACTERIOLÓGICA DE QUESO BLANCO ARTESANAL EN LA PARROQUIA BURÍA, ESTADO LARA, VENEZUELA. *Gaceta de Ciencias Veterinarias. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Decanato de Ciencias Veterinarias. Decanato de Agronomía.*, 20, 35-44.

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiFq6->

<XyueEAxVYRTABHcUsCkkQFnoECCwQAQ&url=https%3A%2F%2Frevistas.uclave.org%2Findex.php%2Fgcv%2Farticle%2Fdownload%2F884%2F376%2F689&usg=AOvVaw3H9r1t5xjcF2aiqL1HXkNJ&o>

Pérez, Y., & Vargas, C. (2019). RECUESTO TOTALES DE BACTERIAS, HONGOS, LEVADURAS, COLIFORMES TOTALES, FECALES Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN QUESO FRESCO Y QUESO CREMA UTILIZANDO LA TÉCNICA DE PETRIFILM. 21-22. <http://up-rid.up.ac.pa/id/eprint/6348>

Quigley, L., McCarthy, R., O'Sullivan, O., Beresford, T. P., Fitzgerald, G. F., Ross, R. P., Stanton, C., & Cotter, P. D. (2013). The microbial content of raw and pasteurized cow milk as determined by molecular approaches. *J Dairy Sci*, 96.

<https://doi.org/10.3168/jds.2013-6688>

Rabello, R. F., Moreira, B. M., Lopez, R. M., Teixeira, L. M., Riley, L. W., & Castro, Á. C. (2007). Tipificación de secuencias multilocus de aislados de Staphylococcus
Tipificación de secuencias multilocus de aislados de Staphylococcus aureus

recuperados de vacas con mastitis en rebaños lecheros brasileños. *Medical Microbiology*, 56. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.47357-0>

Ramirez, C., Navarro, R., & Nievas, D. (2016). ESTUDIO DE DISTINTOS BROTES DE INTOXICACIÓN ALIMENTARIA POR TOXINA ESTAFILOCÓCICA PRESENTE EN QUESO CURADO DE OVEJA. *Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, 18, 255-268.

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjG4bHby72FAxV9QzABHYe1DQ8QFnoECB8QAQ&url=https%3A%2F%2F Dialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F7415683.pdf&usg=AOvVaw0vS OGRQmqpbpck-L1QLAA7&opi=89978449>

Ramírez, L. C., & Ruiz, V. J.F. (2012). Queso Frescos: Propiedades, métodos de preparación y factores que afectan su calidad. 6(Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla), 134.

https://www.researchgate.net/profile/Carolina-Ramirez-Lopez/publication/303959697_Quesos_frescos_propiedades_metodos_de_determinacion_y_factores_que_afectan_su_calidad/links/57601b6208ae227f4a3ee94e/Quesos-frescos-propiedades-metodos-de-determinacion-y-fa

Reglamento técnico 16-377-99. (2001). "Modificar el Reglamento técnico 16-377-99 leche y productos lácteos queso fresco nacional". *Gaceta Oficial, Órgano del Estado*.

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjayNOV9O2FAxWKVTABHYptBBQQFnoECA4QAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.gacetaoficial.gob.pa%2Fgacetas%2F24213_2001.pdf&usg=AOvVaw1hGRIw-V-fP2gWWLeNAHoQ&opi=89978449

Reglamento Técnico Centroamericano 67.04.50:17. (2018). ALIMENTOS. CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS PARA LA INOCUIDAD DE LOS ALIMENTOS. *La Gaceta Diario Oficial, Imprenta Nacional*, 17.

Reglamento técnico DGNTI-COPANIT 16. (2003). Tecnología de alimentos, leches y productos lácteos Queso fresco. *Gaceta Oficial, Procuraduría de la Administración*.

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjB98j5tO-FAxUxRjABHQrlCkkQFnoECB8QAQ&url=http%3A%2F%2Fgacetas.procuraduria-admon.gob.pa%2F24875_2003.pdf&usg=AOvVaw1oiIL6IOvrXvYoSN6-sfKg&opi=89978449

Reid, C., Koppmann, M., Feldman, P., Kleiman, E., & Teisaire, C. (2021). Guía de Buenas Prácticas de Manufactura para servicios de comidas. *Ministerio de Economía Argentina. Secretario de Agricultura, Ganadería y Pesca*, 51-54.

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjH86eFl7OFAxVZRTABHdQGBwwQFnoECCKQAQ&url=https%3A%2F%2Falimentosargentinos.magyp.gob.ar%2FHomeAlimentos%2FPublicaciones%2Fdocumentos%2Fguias%2FguiBPMserviciodecomidas>

Restrepo, A., & Montoya, C. (2010). MPLEMENTACIÓN Y DISEÑO DE PROCEDIMIENTO PARA DETERMINACIÓN DE VIDA ÚTIL DE QUESOS FRESCOS, CHORIZOS FRESCOS Y AGUAS EN BOLSA. (Universidad Tecnológica de Pereira).

Reyes, J. A., Cordero, A. N., Troncoso, M., & Figueroa, G. (2016). Efecto antibacteriano del cobre sobre microorganismos aislados de mastitis bovina. *Microbiol frontal*, 7. <https://doi.org/10.3389%2Ffmicb.2016.00626>

Rios, J., Paris, E., Bettini, M., & Repetto, G. (2012). *Manejo clínico de las intoxicaciones alimentarias*. Ediciones Díaz de Santos. <https://books.google.com.pa/books?id=ZVMBF-CJBFsC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

Rodríguez, C., Caldas, L., & Ogeerally, P. (2009). Calidad sanitaria en queso artesanal tipo "telita". Upata, estado Bolívar, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 9, 98-102. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199414957006>

Rodríguez, R., Álvarez, G., Rendón, J. A., Morales, J. Á., García, J. C., & Olvera, L. A. (2021). Diagnóstico de la calidad sanitaria de queserías artesanales en Salinas. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 461-467.

- Romero, A. A. (2019). *ADICIÓN DE NISINA A QUESO FRESCO ARTESANAL PARA DISMINUIR LA CARGA MICROBIANA*". BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA. FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS.
<https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/bde4a608-4a58-45c7-8cfb-7f9dda073871/content>
- Romero, C., Leyva, R., Cruz, C., & Moreno, S. (2009). EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SANITARIA DE QUESOS CREMA TROPICAL MEXICANO DE LA REGIÓN DE TONALÁ, CHIAPAS. *Revista Mexicana de Ingeniería Química. Universidad Autónoma Chapingo*, 8, 111-119.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382009000100011
- Romero, R., & Mestres, J. (2004). *Productos lácteos. Tecnología*. Universidad Politécnica de Catalunya. Iniciativa Digital Politécnica.
<https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.3/36810/9788498802610.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- RTCA 67.04.70:14. (2016). PRODUCTOS LÁCTEOS. QUESOS. ESPECIFICACIONES. *Food and Agriculture Organization*, 7-9.
<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjaoOHsxeWEAxVPRDABHZYBCM8QFnoECB4QAQ&url=https%3A%2F%2Ffaolex.fao.org%2Fdocs%2Fpdf%2Fpan164635.pdf&usq=AOvVaw3N2gg5pdp2TTU32zMkfpZH&opi=89978449>
- Ruiz, P. N. (2023). Estudio de la degradación de un medio análogo de queso por diferentes especies fúngicas bajo la influencia de distintas condiciones ambientales. *Tecnología de las industria agraria y alimentarias*.
[file:///C:/Users/alexa/AppData/Local/Microsoft/Windows/INetCache/IE/PIF3ZD53/TFG_PABLO_MIGUEL_RUIZ_NAVARRO\[1\].pdf](file:///C:/Users/alexa/AppData/Local/Microsoft/Windows/INetCache/IE/PIF3ZD53/TFG_PABLO_MIGUEL_RUIZ_NAVARRO[1].pdf)
- Ruth, C., & Maurtua, D. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health*, 14, 158-164.

<https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/8334/a02v14n3.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Ryser, E. T., Marth, E. H., & Steele, J. L. (2001). *Applied Dairy Microbiology*. (2 ed.).

Sánchez-Valdés, J. J., Colín-Navarro, V., López-González, F., Avilés-Nova, F., Castelán-Ortega, O. A., & Estrada-Flores, J. G. (2016). Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México. *Salud Pública de México*, 58, 461-467. <http://dx.doi.org/10.21149/spm.v58i4.8027>

Sanz, M. (2021). ¿Todos los microorganismos que se encuentran en el queso son beneficiosos? *Christeyns*.

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwi859yfxKWIAxWDkIQIHx43PeoQFnoECBQQAw&url=https%3A%2F%2Fwww.christeyns.com%2Fes-es%2Ftodos-los-microorganismos-que-se-encuentran-en-el-queso-son-beneficiosos%2F%23%3A~%2F>

Schön, K., Schornsteiner, E., Dzieciol, M., Wagner, M., Müller, M., & Schmitz-Esser, S. (2016). Microbial communities in dairy processing environment floor-drains are dominated by product-associated bacteria and yeasts. *Food Control*, 70, 210-215. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.05.057>

Soria, R. (2020). "Evaluación de calidad microbiológica en queso fresco y adobera, de la región de tierra caliente del estado de Michoacán". *Universidad de Michoacán de San Nicolás de Hidalgo*.

https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwiX9pjDtquFAxUaRDABHbuVC1sQFnoECA8QAQ&url=http%3A%2F%2Fbibliotecavirtual.dgb.umich.mx%3A8083%2Fxmlui%2Fbitstream%2Fhandle%2FDGB_UMICH%2F2035%2FFQFB-R-M-2020-0245.pdf%3

Soruco, M. (2013). *Manual de Procedimientos y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en la elaboración artesanal de productos lácteos*. Instituto Nacional de Tecnología Industrial – INTI, San Martín.

<https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ah>

[UKEwjDhJLqkLKIAxVERzABHUfAGusQFnoECBUQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.consortiolechero.cl%2Fwp-content%2Fuploads%2F2021%2F10%2Fc5_inocuidad.pdf&usg=AOvVaw1D12vYw-je0b6kal8pP7d&o](https://www.consortiolechero.cl/wp-content/uploads/2021/10/c5_inocuidad.pdf)

Stuardo, M. (2006). Planta procesadora de lácteos. *UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR*.
https://www.academia.edu/34271143/Planta_Procesadora_de_L%C3%A1cteos

Tot Formatge. (2020). El queso: Clasificaciones. *Retrieved*.
<https://totformatge.com/es/formatgepedia/el-queso-clasificaciones/>

Ubillus De Piñango, J. (1980). *Determinación microbiológica de quesos pasteurizados nacionales*. Universidad de Panamá. Facultad de Ciencias, Naturales, Exactas y Tecnología.

Van Kessel, J., Karns, J., Gorski, L., McCluskey, B., & Perdue, M. (2004). Prevalence of Salmonellae, Listeria monocytogenes, and Fecal Coliforms in Bulk Tank Milk on US Dairies. *Journal of Dairy Science*, 87, 2822-2830.
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73410-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73410-4)

Vargas, M. B., & Toro, M. (2021). INOCUIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS PRODUCTOS LÁCTEOS. Laboratorio de Microbiología y Probióticos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwj6se_N5-OHAXVCVzABHayMLbsQFnoECBQQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.consortiolechero.cl%2Fwp-content%2Fuploads%2F2021%2F10%2Fc5_inocuidad.pdf&usg=AOvVaw1D12vYw-je0b6kal8pP7d&o

Vasconcelos, G. N., & Ribeiro de Souza da Cunha, M. d. L. (2010). Enterotoxinas estafilocócicas: aspectos moleculares y Métodos de detección. *Revista de Salud Pública y Epidemiología. Universidad Estadual Paulista, Departamento de Microbiología e Inmunología, Bacteriología*, 2, 29-42.

https://www.researchgate.net/publication/287169717_Staphylococcal_enterotoxins_Molecular_aspects_and_detection_methods

- Vásquez, V., Gerardo, J., Jiménez, L., & Abanto, L. (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecología Aplicada*, 17. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172>
- Vásquez, V., Gerardo, J., Jiménez, L., & Abanto, L. (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecología Aplicada. Departamento Académico de Biología*, 17. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172>
- Vautor, E., Abadie, G., Guibert, J. M., Chavalier, N., & Pépin, M. (2005). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* in dairy sheep. *Vet Microbiol.*, 10, 235-9. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.11.019>
- Vázquez, C., Cos, A., & Lopez, C.-N. (2005). Alimentación y nutrición: manual teórico-práctico. *Madrid: Díaz de Santos*. <https://books.google.com.ec/books?id=F-xV6Rul96kC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Vidal, V. (2016). *Manual de micología básica: Introducción al estudio de los hongos*. Universidad de Concepción & ONG Micrófilos https://www.researchgate.net/publication/333774015_Manual_de_Micologia_Basica
- Villegas, D. G. A., Santos, A., & Cervantes, F. (2016). Los Quesos Mexicanos Tradicionales. *Universidad Autónoma Chapingo*. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722017000200323
- VirtualPro. (2014). Fundamentos para la elaboración de quesos. <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKewis0s--mI6FAxXaRTABHUg4AIA4ChAWegQIBhAB&url=https%3A%2F%2Fwww.virtualpro.co%2Ffiles-bv%2F20051201%2F20051201-013.htm&usg=AOvVaw2ahE5fyQIyAtcugdJKx2dq&opi=89978449>

- Von Chong, M. C., García G, R. J., Ambiorix Batista, A. M., & Broce, D. (2014). Evaluación de *Listeria* spp. en muestras ambientales en una empresa de producción artesanal de quesos frescos en La Provincia de Los Santos. *Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible*.
- Walstra, P., Wouters, J., & Geurts, T. (2005). *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*. Prensa CRC, (2. ed). <https://doi.org/10.1201/9781420028010>
- Wertheim, H. F., Melles, D. C., Vos, M. C., Van Leeuwen, W., Van Belkum, A., Verbrugh, H. A., & Nouwen, J. L. (2005). El papel de la portación nasal en las infecciones por *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect Dis.*, 5, 751-762.
[https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(05\)70295-4](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(05)70295-4)
- Zaira, A., & Castillo, I. (2002). "*Determinación de la calidad microbiológica de quesos frescos nacionales producidos en siete provincias del país, mediante la técnica de Petrifilm*". Universidad de Panamá. Facultad de ciencias naturales, exactas y tecnología.
- Zamorán, D. J. (2012). *Manual de Procesamiento Lácteo*. Instituto Nicaragüense de Apoyo a la Pequeña y Mediana Empresa (INPYME).
<https://es.slideshare.net/slideshow/lacteos-13085813/13085813>
- Ziyaina, M., Govindan, B. N., Rasco, B., Coffey, T., & Sablina, S. (2018). Monitoreo de la vida útil de la leche entera pasteurizada En condiciones de almacenamiento refrigerado: Modelos predictivos de pérdida de calidad. *Journal of Food Science*. Instituto de Tecnólogos de Alimentos R. doi: 10.1111/1750-3841.13981

ANEXOS

Anexos A. Datos de la toma de muestra de quesos industrial y artesanal.

Cuadro N°21. Datos de la toma de muestra de quesos de la primera semana.

Primera semana (muestra #1)									
Tipo de queso	Fecha de envío/toma	Fecha de análisis	Hora de toma	Hora de llegada	Hora de análisis	Condición	Temperatura de transporte	Numero de lote	Fecha de vencimiento
Industrial	Lunes 26 de febrero	Lunes 26 de febrero	10:40 am	11:17 am	12:36 pm	Refrigerada	4°C	24020404	10/03/24
Artesanal	Lunes 26 de febrero	Lunes 26 de febrero	10:15 am	11:17 am	12:36 pm	Refrigerada	4°C	N/A	N/A

Cuadro N°22. Datos de la toma de muestras de quesos segunda semana.

Segunda semana (muestra #2)									
Tipo de queso	Fecha de envío/toma	Fecha de análisis	Hora de toma	Hora de llegada	Hora de análisis	Condición	Temperatura de transporte	Numero de lote	Fecha de vencimiento
Industrial	Lunes 4 de marzo	Lunes 4 de marzo	9:04 am	9:40 am	9:51 am	Queso en carretilla, limpiaba en la nevera	4°C	24021201	24/03/24
Artesanal	Lunes 4 de marzo	Lunes 4 de marzo	8:34 am	9:40 am	9:51 am	Refrigerada	4°C	N/A	N/A

		marzo							
--	--	-------	--	--	--	--	--	--	--

Cuadro N°23. Datos de la toma de muestras de quesos tercera semana.

Tercera semana (muestra #3)									
Tipo de queso	Fecha de envío/toma	Fecha de análisis	Hora de toma	Hora de llegada	Hora de análisis	Condición	Temperatura de transporte	Numero de lote	Fecha de vencimiento
Industrial	Lunes 11 de marzo	Lunes 11 de marzo	9:42 am	10:15 am	10:32 am	Refrigerada	3°C	24022704	09/04/24
Artisanal	Lunes 11 de marzo	Lunes 11 de marzo	8:50 am	10:15 am	10:32 am	Refrigerada	3°C	N/A	N/A

Cuadro N°24. Datos de la toma de muestras de quesos cuarta semana.

Cuarta semana (muestra #4)									
Tipo de queso	Fecha de envío/ toma	Fecha de análisis	Hora de toma	Hora de llegada	Hora de análisis	Condición	Temperatura de transporte	Numero de lote	Fecha de vencimiento
Industrial	Lunes 18 de marzo	Lunes 18 de marzo	9:40 am	10:02 am	10:40 am	Refrigerada	3 a 4°C	24030504	16/04/24
Artisanal	Lunes 11 de marzo	Lunes 11 de marzo	9:04 am	10:02 am	10:40 am	Refrigerada	3 a 4°C	N/A	N/A

Cuadro N°25. Datos de la toma de muestras de quesos quinta semana.

Quinta semana (muestra #5)									
Tipo de queso	Fecha de envío/ toma	Fecha de análisis	Hora de toma	Hora de llegada	Hora de análisis	Condición	Temperatura de transporte	Numero de lote	Fecha de vencimiento
Industrial	Lunes 25 de marzo	Lunes 25 de marzo	9:02 am	9:33 am	9:50 am	Refrigerada	4°C	24031701	23/04/24
Artisanal	Lunes 25 de marzo	Lunes 25 de marzo	8:40 am	9:33 am	9:50 am	Refrigerada	4°C	N/A	N/A

Anexo B. Recuento de las colonias.

Muestra 1 Queso Industrial.

Lote: 24020404. Fecha de expiración: 10/03/2024

Cuadro N°26. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Promedio
Coliformes Totales	10 ²	243	238	206	229x10 ²
	10 ³	61	70	77	69.33x10 ³
	10 ⁴	8	8	7	7.67x10 ⁴
<i>Escherichia coli</i>	10 ²	290	275	292	285.67x10 ²
	10 ³	52	60	66	59.33x10 ³
	10 ⁴	7	3	3	4.33x10 ⁴
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ⁴	369	390	390	383x10 ⁴
	10 ⁵	20	16	18	18x10 ⁵
	10 ⁶	3	1	1	1.67x10 ⁶
Hongos	10 ²	1	2	1	1.33x10 ²
	10 ³	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	0
Levaduras	10 ²	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ³	151	137	174	154x10 ³
	10 ⁴	17	17	3	12.33x10 ⁴

Muestra 1 Queso Artesanal

Cuadro N°27. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Recuento de colonias Promedio
Coliformes Totales	10 ¹	139	170	162	157x10 ¹
	10 ²	21	21	23	21.67x10 ²
	10 ³	3	3	2	2.67x10 ³
<i>Escherichia coli</i>	10 ¹	2	1	4	2.33x10 ¹
	10 ²	0	0	0	0
	10 ³	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	150	150	130	143.33x10 ³
	10 ⁴	29	28	24	27x10 ⁴
	10 ⁵	5	5	3	13x10 ⁵
	10 ⁶	0	0	0	0
Hongos	10 ¹	0	0	0	0
	10 ²	0	0	0	0
	10 ³	0	0	0	0
Levaduras	10 ¹	358	352	324	344.67x10 ¹
	10 ²	48	48	58	51.33x10 ²
	10 ³	3	7	4	4.67x10 ³

Muestra 2 Queso Industrial.

Lote: 24021201. Fecha de expiración: 24/03/2024

Cuadro N°28. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Recuento de colonias promedio
Coliformes Totales	10 ²	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ³	276	254	285	271.67x10 ³
	10 ⁴	107	119	117	114.33x10 ⁴
<i>Escherichia coli</i>	10 ²	0	0	0	0
	10 ³	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ⁴	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ⁵	40	38	43	40.33x10 ⁵
	10 ⁶	4	5	4	4.33x10 ⁶
Hongos	10 ²	4	4	0	4x10 ²
	10 ³	2	2	5	3x10 ³
	10 ⁴	1	1	1	1x10 ⁴
Levaduras	10 ²	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ³	276	176	279	243.67x10 ³
	10 ⁴	21	32	38	30.33x10 ⁴

Muestra 2 Queso Artesanal

Cuadro N°29. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Recuento de colonias Promedio
Coliformes Totales	10 ¹	268	272	308	282.67x10 ¹
	10 ²	102	114	111	109x10 ²
	10 ³	16	22	18	18.67x10 ³
<i>Escherichia coli</i>	10 ¹	69	62	56	62.33x10 ¹
	10 ²	8	3	6	5.67x10 ²
	10 ³	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	388	390	386	388x10 ³
	10 ⁴	54	49	63	55.33x10 ⁴
	10 ⁵	5	8	9	7.33x10 ⁵
	10 ⁶	0	0	0	0
Hongos	10 ¹	0	0	0	0
	10 ²	0	0	0	0
	10 ³	0	0	0	0
Levaduras	10 ¹	309	313	301	307.67x10 ¹
	10 ²	56	57	55	56x10 ²
	10 ³	3	5	10	6x10 ³

Muestra 3 Queso Industrial.

Lote: 24022704. Fecha de expiración: 09/04/2024

Cuadro N°30. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Recuento de colonias promedio
Coliformes Totales	10 ²	17	20	22	19.67x10 ²
	10 ³	3	1	3	23.3x10 ³
	10 ⁴	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	10 ²	53	62	52	55.67x10 ²
	10 ³	11	7	5	7.6x10 ³
	10 ⁴	1	1	0	1x10 ⁴
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	3	2	0	2.5x10 ³
	10 ⁴	1	1	0	1x10 ⁴
	10 ⁵	0	0	0	0
Hongos	10 ²	0	0	0	0
	10 ³	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	0
Levaduras	10 ²	19	34	16	23x10 ²
	10 ³	2	0	3	2.5x10 ³
	10 ⁴	0	0	0	0

Muestra 3 Queso Artesanal

Cuadro N°31. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Recuento de colonias Promedio
Coliformes Totales	10 ¹	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ²	436	432	448	438.6710 ²
	10 ³	174	175	164	171x10 ³
<i>Escherichia coli</i>	10 ¹	93	81	91	88.33x10 ¹
	10 ²	13	15	10	12.67x10 ²
	10 ³	1	1	0	1x10 ³
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ⁴	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ⁵	95	83	94	90.67x10 ⁵
	10 ⁶	12	17	14	14.3310 ⁶
Hongos	10 ¹	49	45	46	46.67x10 ¹
	10 ²	25	27	33	28.33x10 ²
	10 ³	6	2	0	4x10 ³
Levaduras	10 ¹	99	90	66	85x10 ¹
	10 ²	23	13	22	19.33x10 ²
	10 ³	2	0	0	2x10 ³

Muestra 4 Queso Industrial.

Lote: 24030504. Fecha de expiración: 016/04/2024

Cuadro N°32. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Recuento de colonias promedio
Coliformes Totales	10 ²	80	81	95	85.33x10 ²
	10 ³	14	12	8	11.33x10 ³
	10 ⁴	2	1	1	1.33x10 ⁴
<i>Escherichia coli</i>	10 ²	7	18	13	12.67x10 ²
	10 ³	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	0
	10 ⁵	0	0	0	0
Hongos	10 ²	0	0	0	0
	10 ³	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	0
Levaduras	10 ²	88	103	108	99.66x10 ²
	10 ³	5	11	12	9.33x10 ³
	10 ⁴	1	0	0	1x10 ⁴

Muestra 4 Queso Artesanal

Cuadro N°33. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Recuento de colonias Promedio
Coliformes Totales	10 ¹	88	78	74	80x10 ²
	10 ²	28	41	35	34.66x10 ²
	10 ³	3	1	1	1.67x10 ³
<i>Escherichia coli</i>	10 ¹	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ²	191	224	232	215.67x10 ²
	10 ³	25	31	37	31x10 ³
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	2	2	2	2x10 ³
	10 ⁴	0	0	0	0
	10 ⁵	0	0	0	0
Hongos	10 ¹	3	2	3	2.67x10 ¹
	10 ²	0	0	0	0
	10 ³	0	0	0	0
Levaduras	10 ¹	46	38	61	48.33x10 ¹
	10 ²	8	8	10	8.66x10 ²
	10 ³	2	0	1	1x10 ³

Muestra 5 Queso Industrial.

Lote: 24031701. Fecha de expiración: 23/04/2024

Cuadro N°34. Cuantificación microbiológica del queso blanco industrial.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Recuento de colonias promedio
Coliformes Totales	10 ²	67	69	61	65.66x10 ²
	10 ³	7	5	11	7.66x10 ³
	10 ⁴	2	4	0	3x10 ⁴
<i>Escherichia coli</i>	10 ²	1	1	0	1x10 ²
	10 ³	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	1	0	0	1
	10 ⁴	0	0	0	0
	10 ⁵	0	0	0	0
Hongos	10 ²	0	0	0	0
	10 ³	0	0	0	0
	10 ⁴	0	0	0	0
Levaduras	10 ²	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ³	51	33	45	43x10 ³
	10 ⁴	0	0	6	2x10 ⁴

Muestra 5 Queso Artesanal

Cuadro N°35. Cuantificación microbiológica del queso blanco artesanal.

Microorganismos	Diluciones	Recuento de colonias Placa 1	Recuento de colonias Placa 2	Recuento de colonias Placa 3	Recuento de colonias Promedio
Coliformes Totales	10 ¹	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ²	142	139	131	137.33x10 ²
	10 ³	0	10	8	6x10 ³
<i>Escherichia coli</i>	10 ¹	244	242	235	240.33x10 ¹
	10 ²	35	48	49	44x10 ²
	10 ³	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ³	231	229	223	227.67x10 ³
	10 ⁴	18	30	25	24.33x10 ⁴
	10 ⁵	2	3	4	3x10 ⁵
Hongos	10 ¹	9	9	15	11x10 ¹
	10 ²	2	1	2	1.66x10 ²
	10 ³	0	0	0	0
Levaduras	10 ¹	DNPC	DNPC	DNPC	DNPC
	10 ²	184	146	182	170.66x10 ²
	10 ³	59	52	54	55x10 ³

Anexo C. Análisis estadístico. Prueba U: Mann Whitney.

Los resultados obtenidos indican que no existen diferencias en el número de coliformes totales en la dilución 10^2 y 10^3 , de *E. coli* en la dilución 10^2 y 10^3 , *S. aureus* en la dilución 10^4 y 10^5 , en hongos en la dilución 10^2 y 10^3 , en las levaduras en la dilución 10^2 y 10^3 con referencia al promedio del conteo de las colonias en las muestras de queso industrial y artesanal.

Cuadro N°36. Prueba U: Mann Whitney, resultados de prueba de significancia entre microorganismos.

Microorganismo	Diluciones	P significancia
Coliformes Totales	10^2	(p= >0.05).
Coliformes Totales	10^3	(p= >0.05).
<i>Escherichia coli</i>	10^2	(p= >0.05).
<i>Escherichia coli</i>	10^3	(p= >0.05).
<i>Staphylococcus aureus</i>	10^4	(p= >0.05).
<i>Staphylococcus aureus</i>	10^5	(p= >0.05).
Hongos	10^2	(p= >0.05).
Hongos	10^3	(p= >0.05).
Levaduras	10^2	(p= >0.05).
Levaduras	10^3	(p= >0.05).

Anexo D. Resultados de las placas Petrifilm

Análisis de coliformes totales en las 5 muestras de queso artesanal e industrial en la dilución $10^2 - 10^3$, muestras con crecimiento de colonias

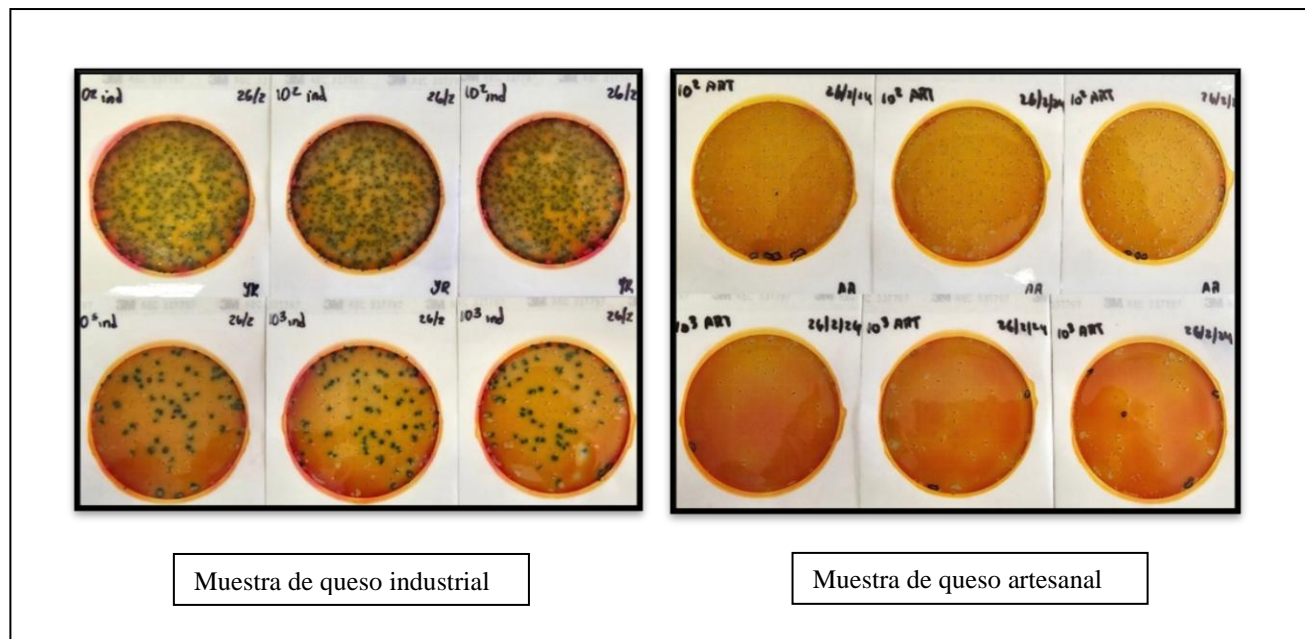


Figura N°29. Muestra #1 coliformes totales y *E. coli* (Dil. 10^2-10^3)

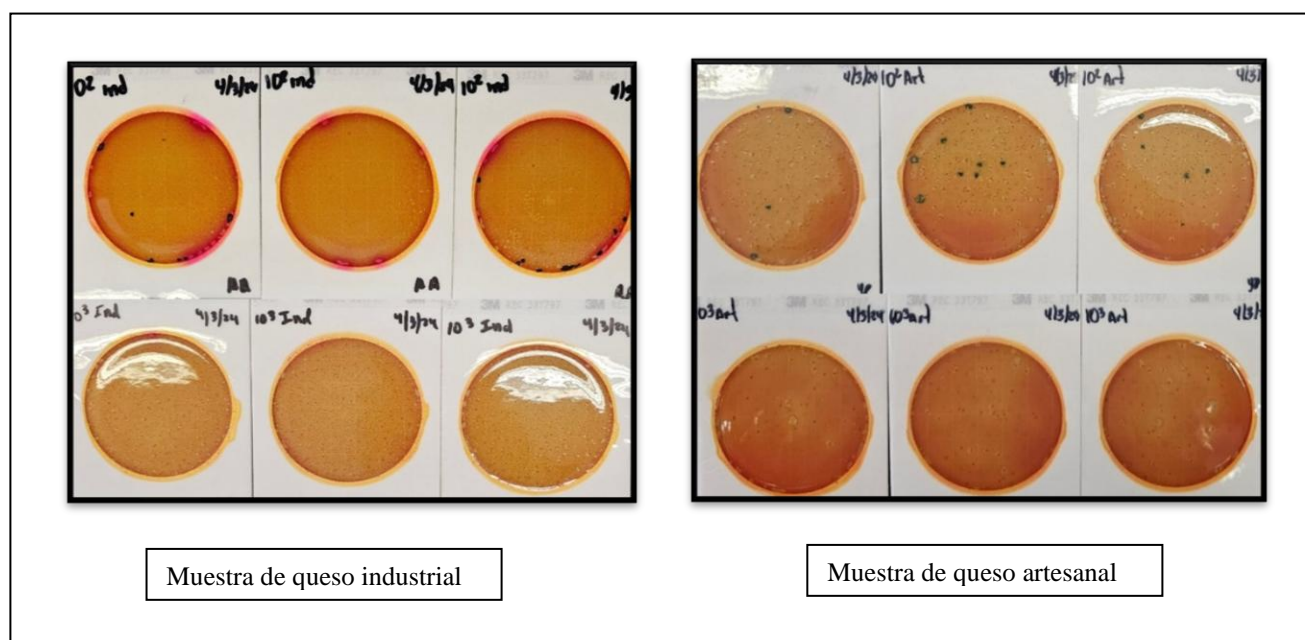


Figura N°30. Muestra #2 coliformes totales y *E. coli* (Dil. 10^2-10^3)

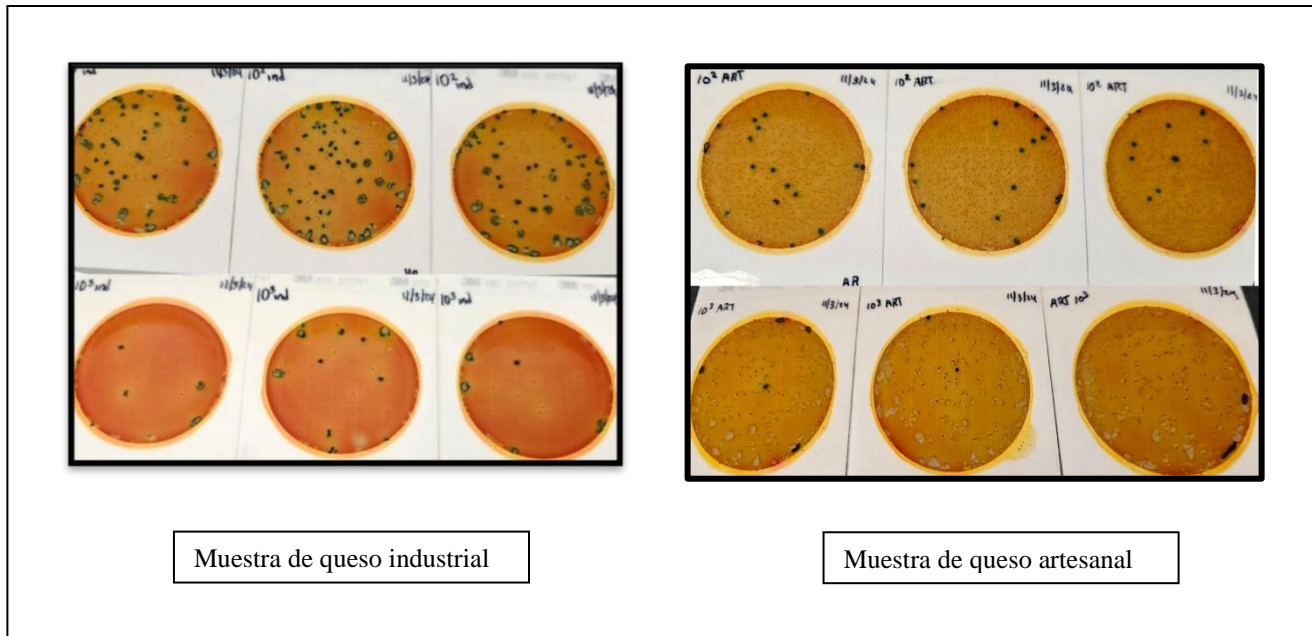


Figura N°31. Muestra #3 coliformes totales y *E. coli* (Dil. 10^2 - 10^3)

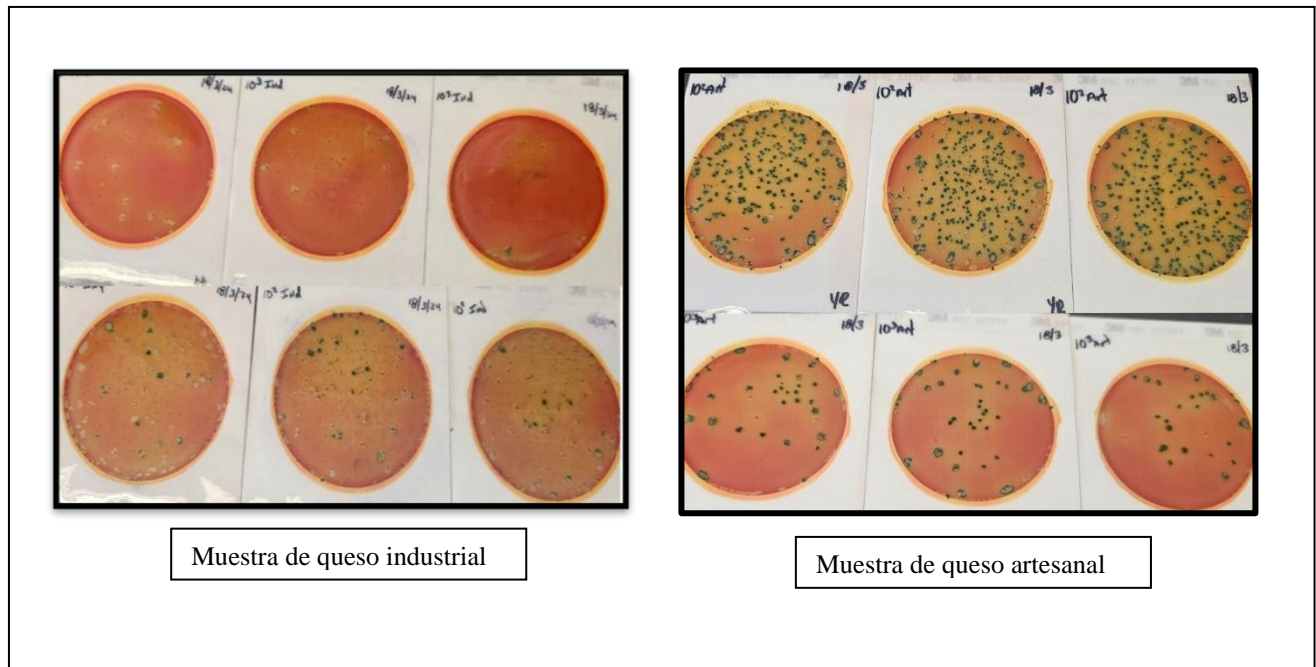


Figura N° 32. Muestra #4 coliformes totales y *E. coli* (Dil. 10^2 - 10^3)

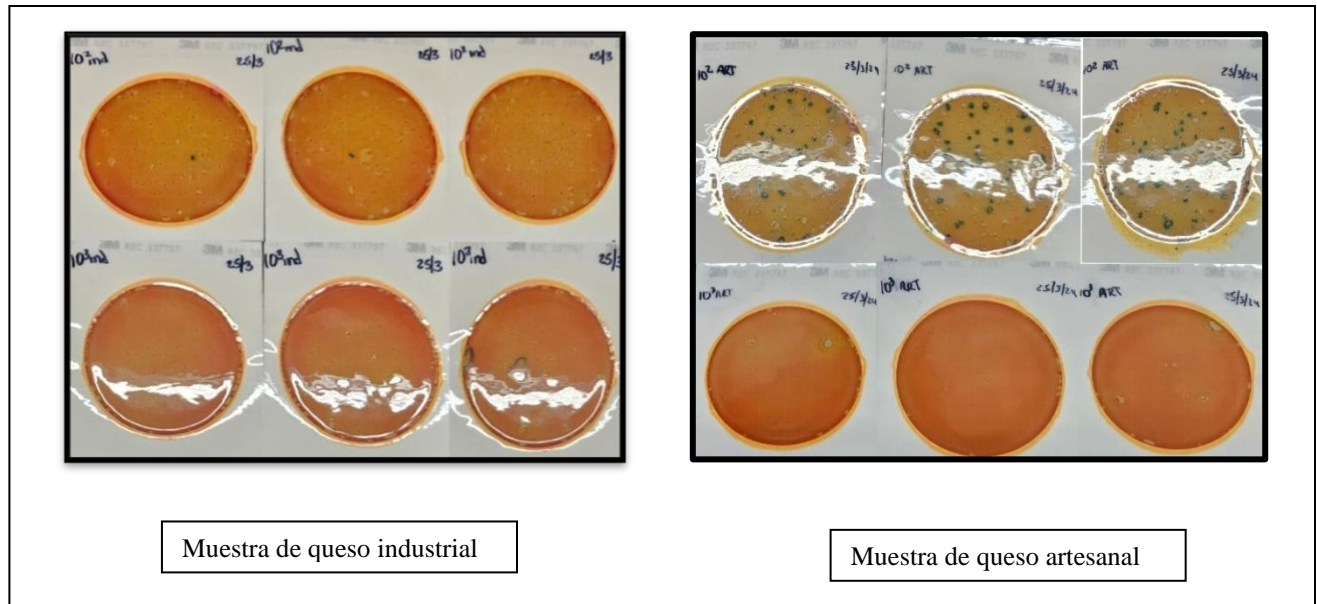


Figura N°33. Muestra #5 coliformes totales y *E. coli* (Dil. 10^2 - 10^3)

Análisis de *Staphylococcus aureus* en las 5 muestras de queso artesanal e industrial

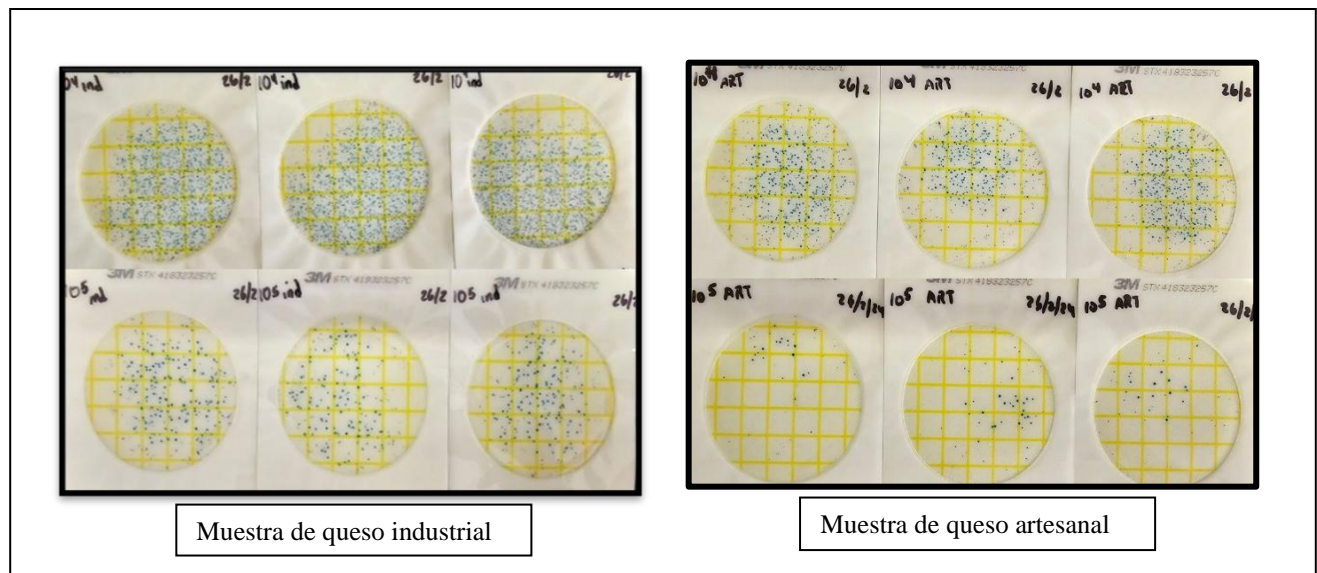


Figura N°34. Muestra #1 *Staphylococcus aureus* (Dil. 10^4 - 10^5)

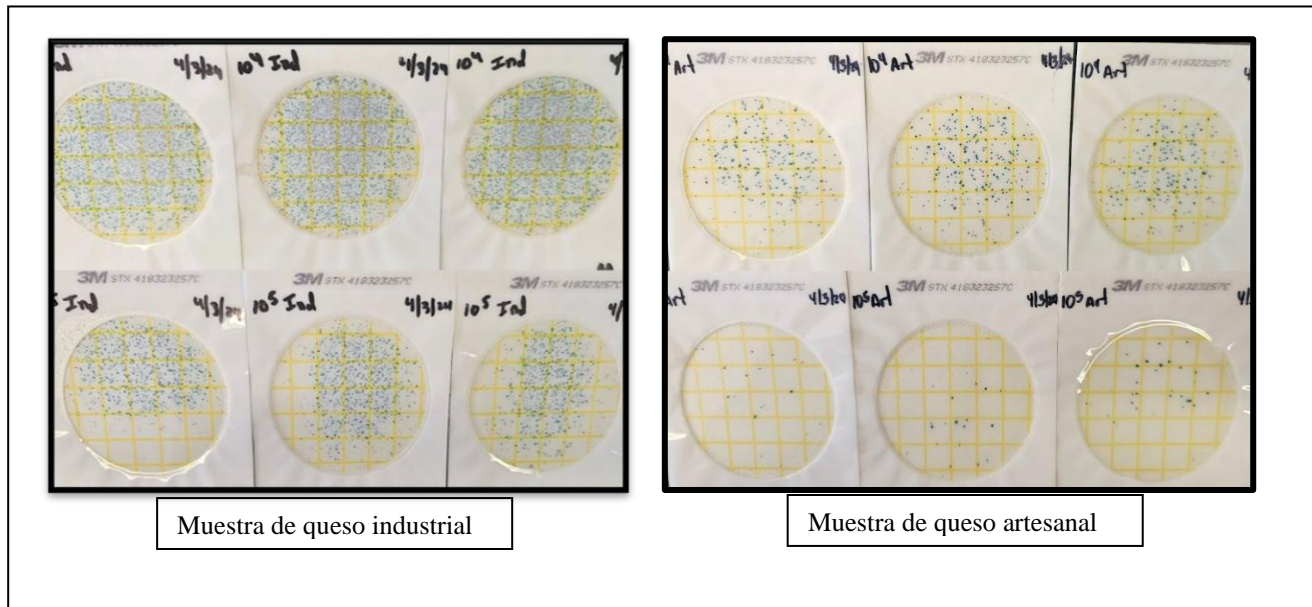


Figura N°35. Muestra #2 *Staphylococcus aureus* (Dil. 10^4 - 10^5)

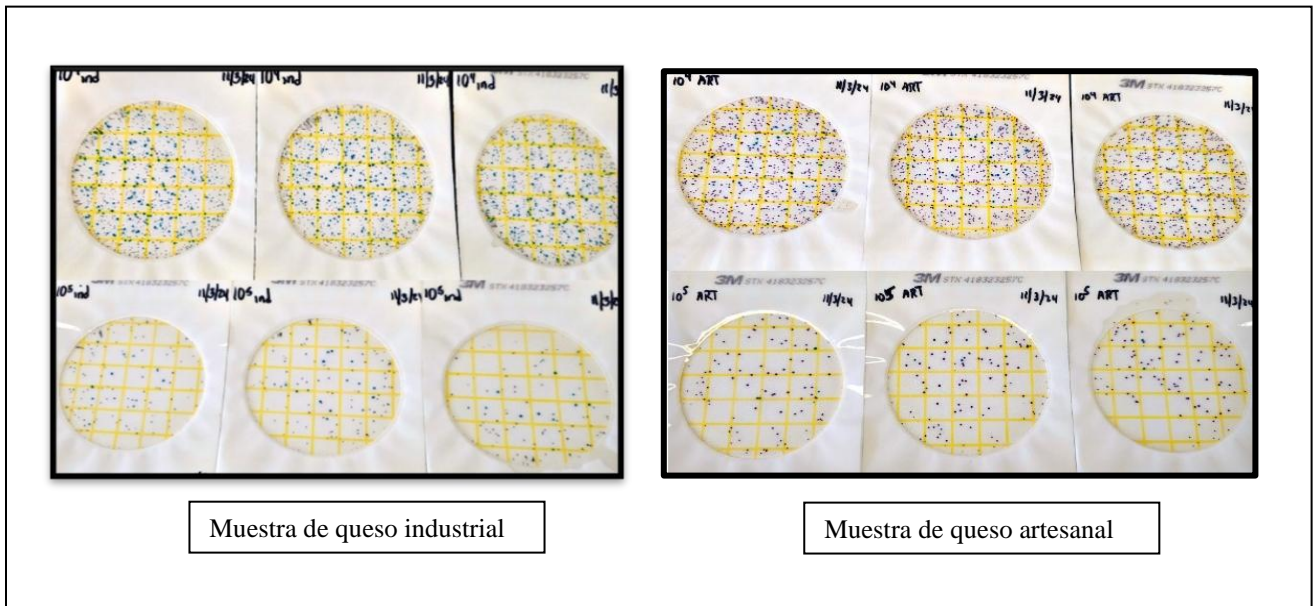


Figura N°36. Muestra #3 *Staphylococcus aureus* (Dil. 10^4 - 10^5)

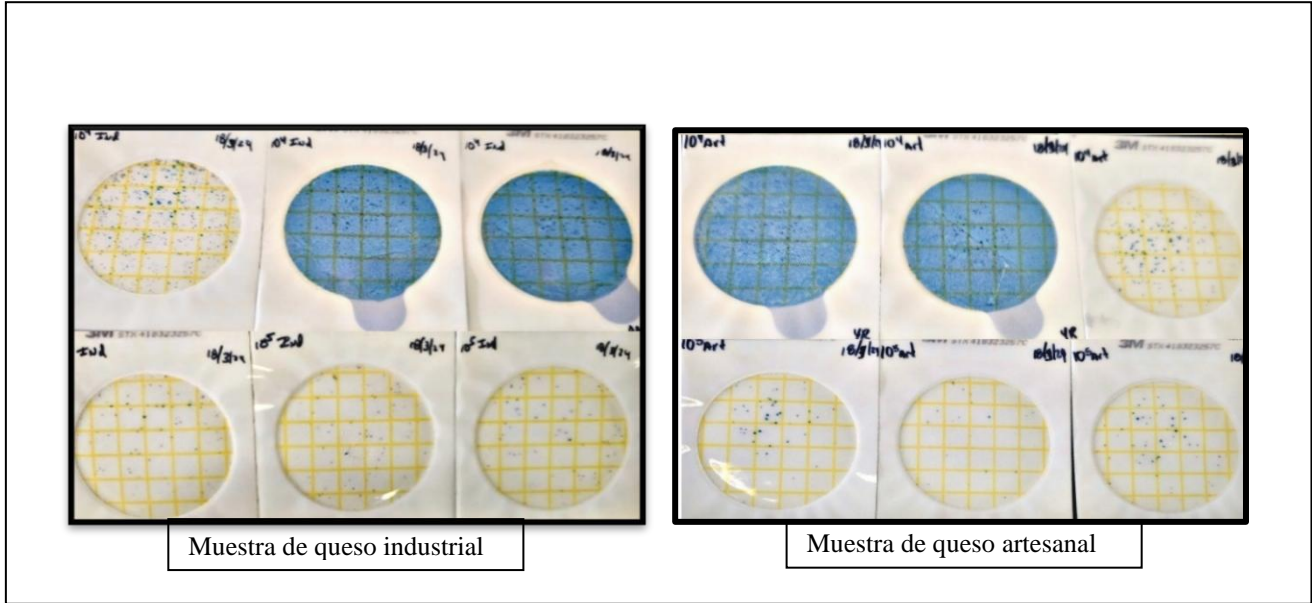


Figura N°37. Muestra #4 *Staphylococcus aureus* (Dil. 10^4 - 10^5)

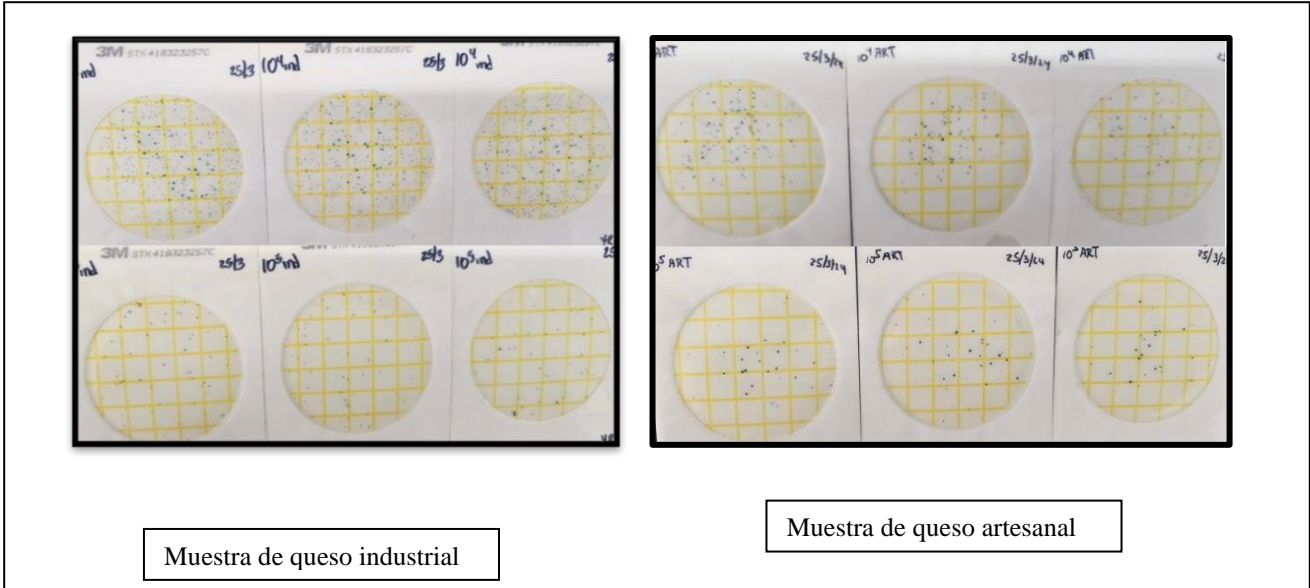


Figura N°38. Muestra#5 *Staphylococcus aureus* (Dil. 10^4 - 10^5)

Análisis de hongos y levaduras en las 5 muestras de queso artesanal e industrial

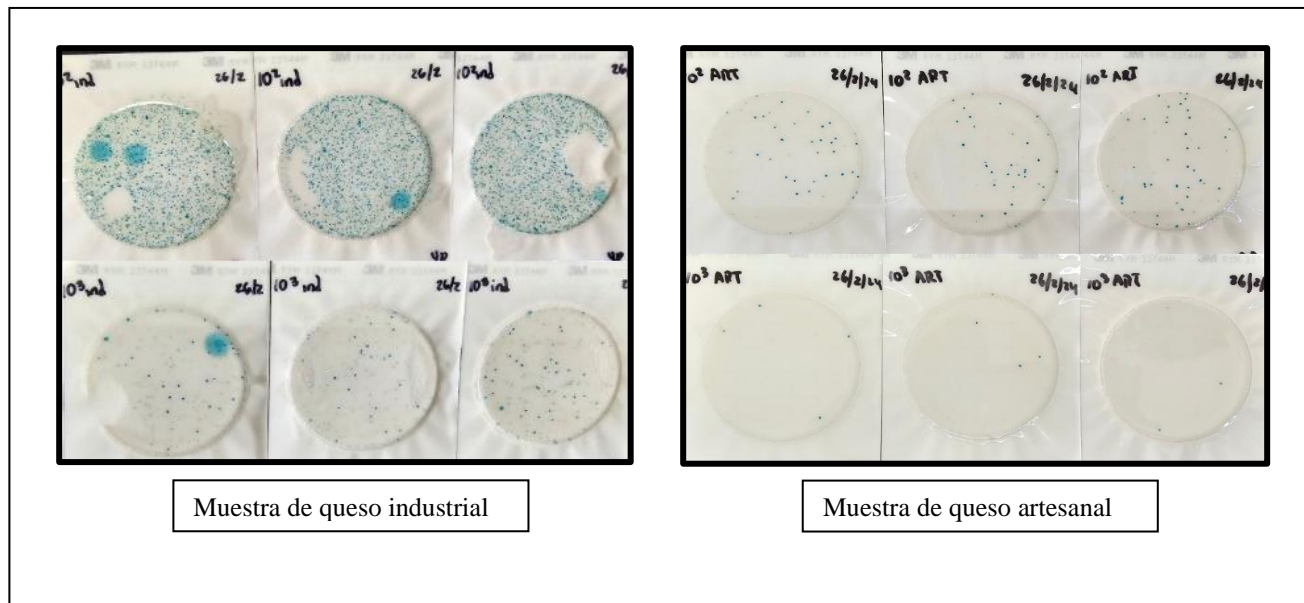


Figura N°39. Muestra #1 hongos y levadura (Dil. 10^1 - 10^2)

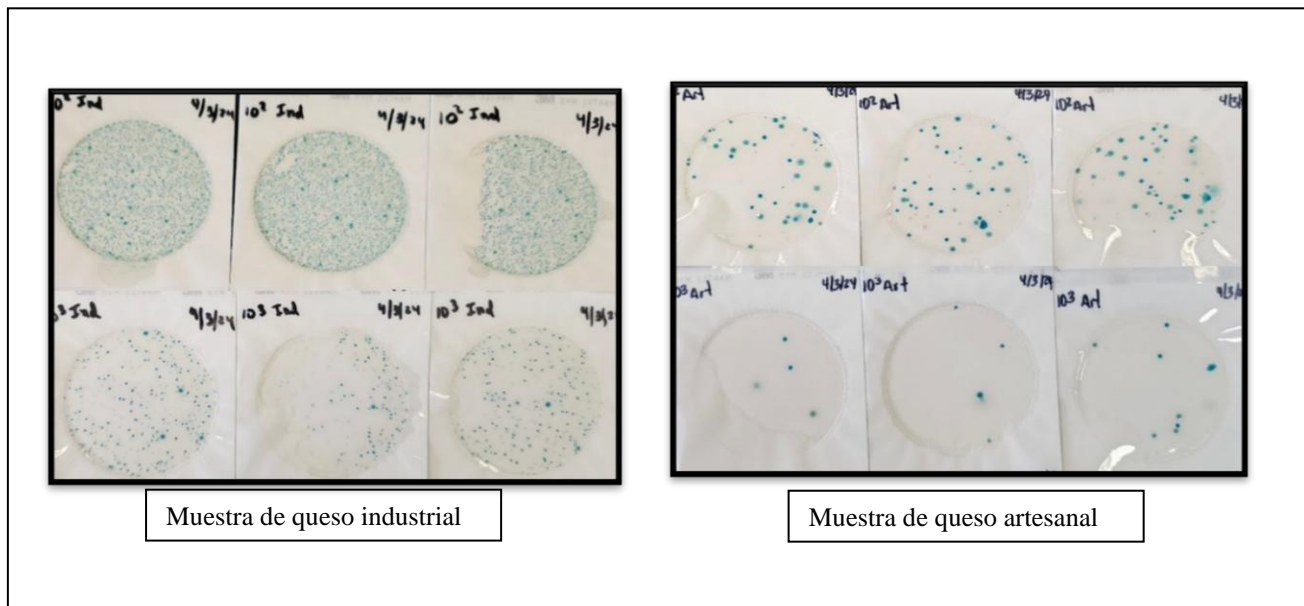


Figura N°40. Muestra #2 hongos y levaduras (Dil. 10^2 - 10^3)

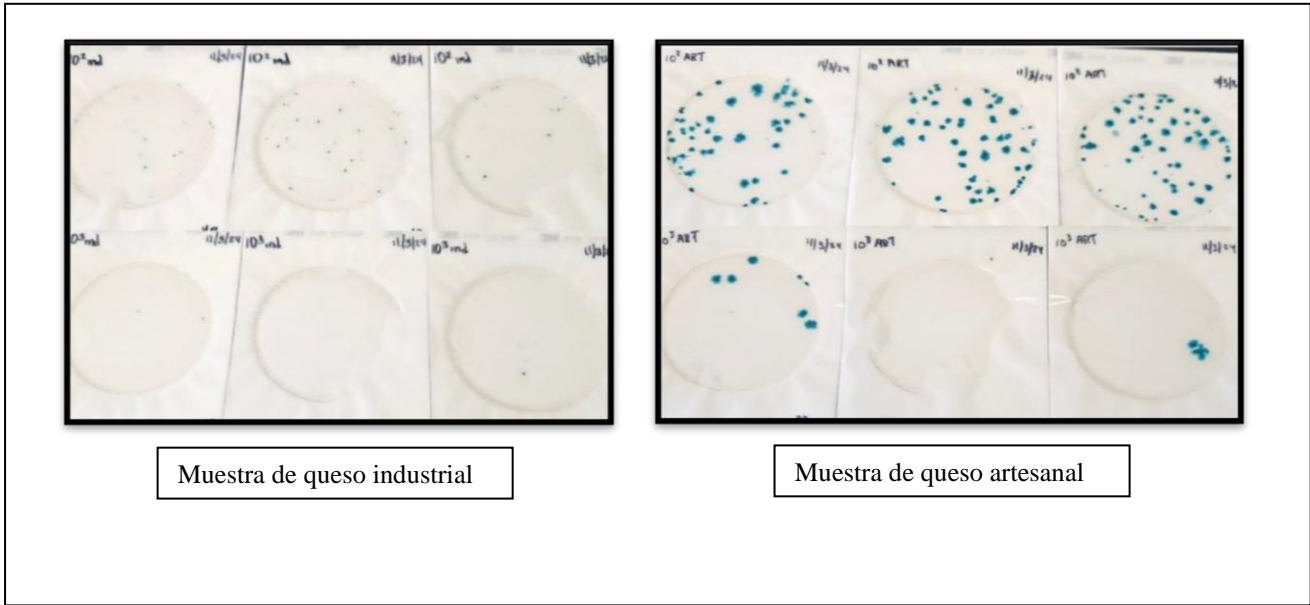


Figura N°41. Muestra #3 hongos y levaduras (Dil. 10^2 - 10^3)

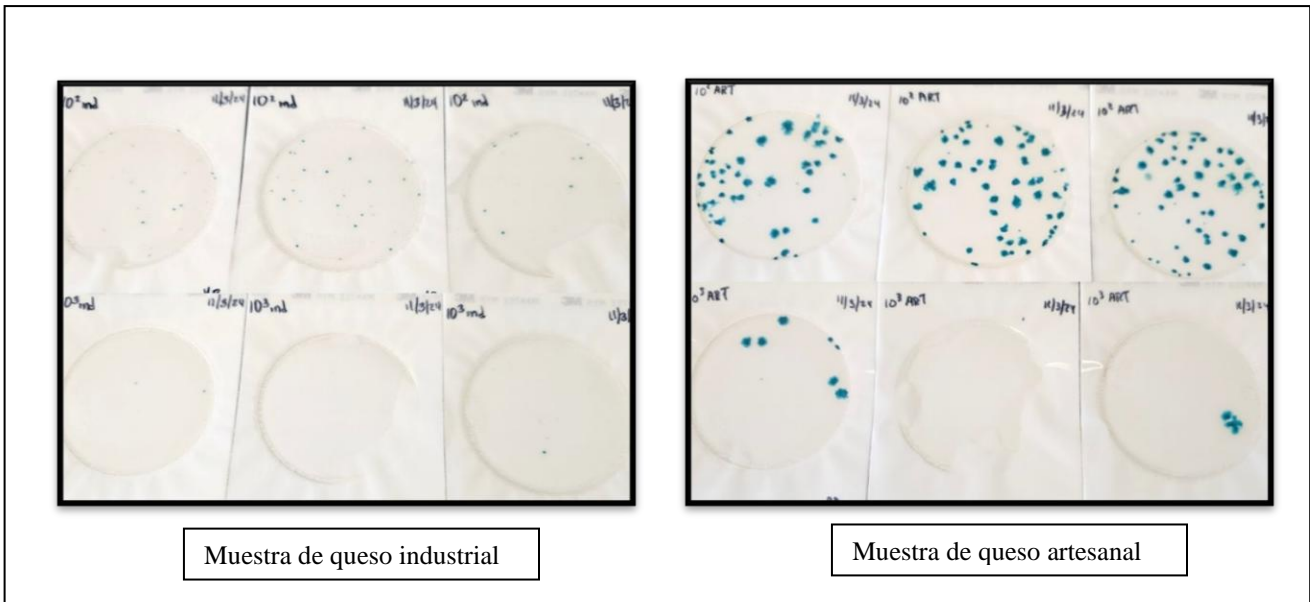
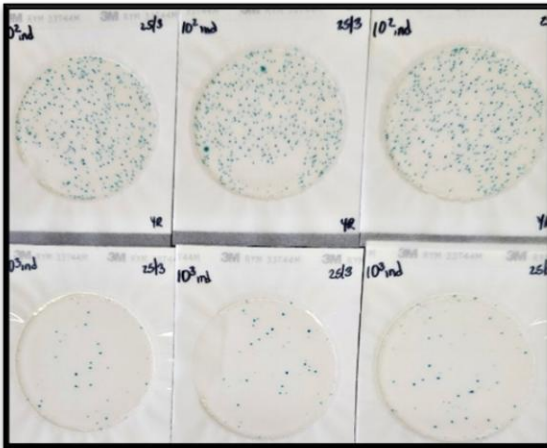
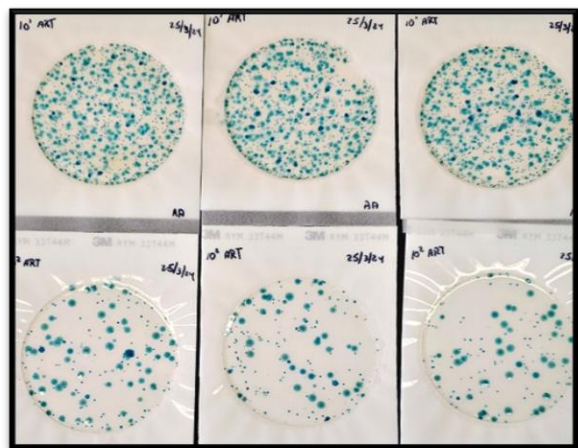


Figura N°42. Muestra #4 hongos y levaduras (Dil. 10^2 - 10^3)



Muestra de queso industrial



Muestra de queso artesanal

Figura N°43. Muestra #5 hongos y levaduras (Dil. 10^2 - 10^3)