



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

DIRECCIÓN DE POSGRADO Y EDUCACIÓN CONTINUA

MAESTRIA EN CIENCIAS VETERINARIAS

TRABAJO DE TITULACIÓN

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MAGISTER EN
CIENCIAS VETERINARIAS**

TEMA

**“ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE QUESOS FRESCOS EXPENDIDOS EN
EL CANTÓN GUARANDA Y EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA DE LAS BACTERIAS AISLADAS”**

AUTOR:

PABLO NICOLÁS TELLO CAMACHO

TUTOR

Dr. Jonnathan Vinicio Arias Real MSc.

GUARANDA – ECUADOR

2026

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Dr. Jonnathan Vinicio Arias Real MSc.

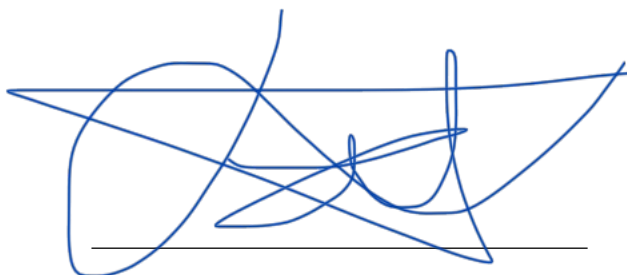
Docente tutor de la propuesta:

CERTIFICA:

Que el presente proyecto de investigación titulado “ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE QUESOS FRESCOS EXPENDIDOS EN EL CANTÓN GUARANDA Y EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE LAS BACTERIAS AISLADAS”.

En autoría de Pablo Nicolás Tello Camacho, estudiante del programa de maestría en Ciencias Veterinarias de la Universidad Estatal de Bolívar, el proyecto ha sido debidamente revisado e incorporado las recomendaciones emitidas en las asesorías realizadas; en tal virtud autorizo con mi firma su presentación para que pueda ser presentado, defendido y sustentado, observando las normas legales que para el efecto existen y se dé el trámite legal correspondiente.

Guaranda, 15 de abril de 2026

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and lines, positioned above a horizontal line.

Dr. Jonnathan Vinicio Arias Real MSc.

CI.0201978988

DERECHOS DE AUTOR

Yo, Pablo Nicolás Tello Camacho, portador de la Cédula de Identidad No 0201880798, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del Trabajo de Titulación: "Análisis microbiológico de quesos frescos expendidos en El cantón Guaranda y evaluación de la resistencia Antimicrobiana de las bacterias aisladas" modalidad "Trabajo de investigación", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN, concedemos a favor de la Universidad Estatal de Bolívar, una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos. Conservamos a mi/nuestro favor todos los derechos de autor sobre la obra, establecidos en la normativa citada.

Así mismo, autorizo a la Universidad Estatal de Bolívar, para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Digital, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que la obra objeto de la presente autorización es original en su forma de expresión y no infringe el derecho de autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Universidad de toda responsabilidad.



Pablo Nicolás Tello Camacho

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi padre, quien es mi mayor motivación para crecer profesionalmente. Sé que, desde el cielo, guía mis pasos, celebra mis logros y me impulsa a seguir su ejemplo y continuar su camino con esfuerzo y dedicación.

AGRADECIMIENTO

Agradezco de manera especial a mi alma mater, la Universidad Estatal de Bolívar, por brindarme la formación académica que ha sido la base de mi desarrollo profesional, así como a sus docentes, quienes con su dedicación y conocimiento contribuyeron significativamente a mi crecimiento intelectual.

Expreso un profundo agradecimiento al Dr. Joscelito Solano, por ser no solo un excelente director, sino también un amigo y guía constante. Su apoyo, orientación y ejemplo han sido fundamentales a lo largo de mi formación académica, convirtiéndose en una persona a quien admiro y considero un referente.

De igual manera, agradezco al Dr. Jonnathan Arias, mi amigo y tutor; por su compromiso con la mejora de la educación y su apoyo desinteresado durante este programa de posgrado. Su motivación y vocación han sido una inspiración en este proceso.

A mi madre, por su amor, paciencia y apoyo incondicional a lo largo de todo este camino. Su presencia ha sido un pilar fundamental en los momentos más exigentes de mi vida académica.

A mi hermano, quien además de ser mi mejor amigo, es una de las mejores personas que conozco. Su empatía, solidaridad, fortaleza e interés por el bienestar colectivo lo convierten en un verdadero ejemplo a seguir. Me siento profundamente orgulloso de él.

Al Jiu-Jitsu y su gente, por demostrarme que hay solución para todo y que la constante búsqueda por la perfección es lo que nos hace crecer como personas.

Finalmente, y no menos importante: gracias, Yess, por ser una parte importante de mi vida. Con tus locuras y ocurrencias, me motivas a ser mejor persona cada día y a creer que el amor existe.

CALAJO!

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	1
1.1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2. PROBLEMA	2
1.3. OBJETIVOS.....	3
Objetivo general	3
Objetivos específicos.....	3
1.4. HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Generalidades de los productos lácteos	5
2.1.1. Definición de productos lácteos	5
2.1.2. Clasificación de los quesos.....	5
2.1.3. Queso fresco: características.....	6
2.1.4. Alto contenido de humedad.....	6
2.1.5. pH.....	7
2.1.6. Vida útil corta.....	7
2.2 Calidad microbiológica de alimentos	8
2.2.1. Microorganismos indicadores.....	8
2.2.2. Microorganismos patógenos.....	8
2.2.3. Importancia del control microbiológico en alimentos.....	9
2.2.4. Normativas microbiológicas (INEN, FAO, WHO).....	9
2.3 Microorganismos asociados a quesos frescos	9
2.3.1. <i>Escherichia coli</i>	9
2.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	10

2.3.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	10
2.3.4. Coliformes totales y fecales.....	11
2.4. Factores que influyen en la contaminación microbiológica	11
2.4.1. Factores intrínsecos	11
2.4.2. Factores extrínsecos.....	12
2.4.3. Manipulación e higiene	12
2.4.4. Ruptura de la cadena de frío.....	13
2.4.5. Manipulación en los mercados	13
2.5 Parámetros fisicoquímicos en quesos frescos.....	14
2.5.1. Humedad	14
2.5.2. Acidez titulable.....	14
2.5.3. Temperatura de exhibición	14
2.5.4. Relación de los parámetros fisicoquímicos con el crecimiento microbiano	15
2.6 Resistencia antimicrobiana	15
2.7 Resistencia antimicrobiana	17
2.7.1. Resistencia antimicrobiana en bacterias transmitidas por alimentos.....	17
2.7.2. Resistencia en <i>Escherichia coli</i>	17
2.7.3. Resistencia en <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.7.4. Importancia en la inocuidad alimentaria	18
2.8 Métodos microbiológicos aplicados a alimentos.....	19
2.8.1. Técnicas de cultivo microbiológico.....	19
2.8.2. Medios selectivos y diferenciales	19
2.8.3. Identificación bioquímica de microorganismos.....	20
2.8.4. Técnica de difusión en disco (Kirby-Bauer)	20
2.9. Antimicrobianos utilizados en la evaluación de susceptibilidad bacteriana...	21

2.9.1. Penicilina	21
2.9.2. Ampicilina	21
2.9.3. Importancia de los antibióticos β -lactámicos en estudios de resistencia	22
3.1. Materiales	23
3.1.1. Localización de la investigación.....	23
3.1.2. Zona de vida	23
3.2. Metodología.....	24
3.2.1. Material experimental.....	24
3.2.2. Factores en estudio	24
3.2.3. Tratamientos	24
3.2.4. Tipo de análisis.....	24
3.2.5. Métodos de evaluación y datos a tomarse	24
3.2.6. Manejo del experimento	26
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28
COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS	38
CAPÍTULO V	39
3.3. CONCLUSIONES.....	39
3.4. RECOMENDACIONES	40
BIBLIOGRAFÍA.....	41
ANEXOS.....	

ÍNDICE TABLAS

N.º	Detalle	Pág.
1	Situación geográfica y edafoclimática	26
2	Parámetros fisicoquímicos del queso fresco	27
3	Recuentos microbiológicos	28
4	Identificación bacteriana por técnicas de cultivo y bioquímicas	30
5	Nivel de inocuidad en quesos frescos expendidos.	34
6	Actividad antimicrobiana de Penicilina G.	35
7	Actividad antimicrobiana de Ampicilina.	37

ÍNDICE FIGURAS

N.º	Detalle	Pág.
1	Temperatura de quesos frescos en exposición.	32
2	Prueba de catalasa (+)	33
3	Medio de cultivo PALCAM	34
4	Prueba de oxidasa (+)	35
5	Actividad antimicrobiana de Penicilina G	36
6	Actividad antimicrobiana de Ampicilina	37

ÍNDICE ANEXOS

Nº	DETALLE
1	Mapa de ubicación de la investigación
2	Evidencia fotográfica
3	Glosario de términos técnicos

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la calidad microbiológica de los quesos frescos expendidos en los mercados del cantón Guaranda y determinar el perfil de resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas. Se analizaron 60 muestras provenientes de los mercados Bellavista, 10 de Noviembre y Guanujo. Se evaluaron parámetros fisicoquímicos (pH, humedad, acidez titulable y temperatura de exhibición), microbiológicos (coliformes totales, coliformes fecales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*) y la susceptibilidad antimicrobiana mediante el método Kirby-Bauer frente a penicilina G y ampicilina. Los resultados mostraron que, aunque el pH y la acidez se mantuvieron dentro de los rangos normativos, las temperaturas de exhibición superaron los valores recomendados, favoreciendo el crecimiento microbiano. Se evidenciaron altos recuentos de coliformes y la presencia de patógenos en todas las muestras, incumpliendo la normativa INEN. *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* fueron los microorganismos más frecuentes, mientras que *Listeria monocytogenes* se presentó en menor proporción. En cuanto a la resistencia antimicrobiana, se observaron altos niveles de resistencia en *E. coli* y *S. aureus* frente a penicilina y ampicilina, mientras que *L. monocytogenes* mostró alta sensibilidad. Se concluye que los quesos frescos comercializados presentan baja inocuidad microbiológica y constituyen un riesgo para la salud pública, evidenciando la necesidad de fortalecer los controles sanitarios y el uso responsable de antimicrobianos.

Palabras clave: inocuidad alimentaria; queso fresco; resistencia antimicrobiana; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the microbiological quality of fresh cheeses sold in markets of Guaranda canton and to determine the antimicrobial resistance profile of isolated bacteria. A total of 60 samples were collected from Bellavista, 10 de Noviembre, and Guanujo markets. Physicochemical parameters (pH, moisture, titratable acidity, and storage temperature), microbiological indicators (total coliforms, fecal coliforms, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes*), and antimicrobial susceptibility using the Kirby-Bauer method against penicillin G and ampicillin were analyzed. Results showed that although pH and acidity values were within regulatory limits, storage temperatures exceeded recommended levels, promoting microbial growth. High counts of coliforms and the presence of pathogenic microorganisms were detected in all samples, failing to comply with INEN standards. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were the most frequently isolated bacteria, while *Listeria monocytogenes* was less prevalent. Regarding antimicrobial resistance, high resistance levels were observed in *E. coli* and *S. aureus* against penicillin and ampicillin, whereas *L. monocytogenes* showed high susceptibility. In conclusion, the fresh cheeses analyzed present low microbiological safety and represent a potential public health risk, highlighting the need for improved sanitary controls and responsible antimicrobial use.

Keywords: food safety; fresh cheese; antimicrobial resistance; *Escherichia coli*; *Staphylococcus aureus*

CAPÍTULO I.

1.1. INTRODUCCIÓN

El consumo de queso fresco representa un riesgo significativo a nivel local, nacional y mundial en lo que se refiere a salud pública, debido a la frecuente contaminación con bacterias patógenas al momento de la comercialización. Esto se agrava debido a la emergencia a la resistencia antimicrobiana, que es considerada por la Organización Mundial de la Salud como una de las principales amenazas para la salud pública mundial (World Health Organization [WHO], 2021)

La elaboración de quesos frescos artesanales, producidos con leche no pasteurizada, representa un riesgo de transmisión de enfermedades producidas por alimentos. Estudios recientes demuestran una prevalencia alta de patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en estos productos (Keba et al., 2020). Además de esto se encontró una alta resistencia a penicilina, cefoxitina y eritromicina en muestras de queso fresco en una investigación en la sierra ecuatoriana (Albuja Landi et al., 2023)

En Ecuador, el consumo de queso fresco es una práctica básica en toda la población, e investigaciones revelan que una proporción considerable de este producto, incumple los estándares microbiológicos impuestos por los organismos regulatorios para su expendio en locales comerciales y mercados; un estudio en la Sierra ecuatoriana determinó que el 38% de muestras de queso fresco excedían los límites permitidos de coliformes fecales y se detectó en un 22% la presencia de *S. aureus* (Vaca Córdova et al., 2021).

La situación de la resistencia a los antibióticos en el Ecuador es crítica, ya que se reportan tasas elevadas de resistencia en *E. coli* y *S. aureus* aisladas en humanos, que da a conocer un problema emergente en el país (Farfán Sari et al., 2023). El uso de antimicrobianos en la producción animal tradicional, generalmente sin control veterinario, es un factor a tener en cuenta ya que contribuye de manera significativa a la resistencia bacteriana que puede llegar de manera indirecta al consumidor a través de los alimentos (Ortega-Paredes et al., 2019)

1.2. PROBLEMA

La investigación presenta justificación sanitaria, científica y social debido a que los quesos frescos constituyen un alimento de consumo masivo por parte de la población ecuatoriana. La inocuidad de este tipo de productos es un factor que puede contribuir a la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos.

Desde el punto de vista científico, este estudio permitirá generar información actualizada sobre la presencia de microorganismos indicadores y patógenos en quesos frescos y sus perfiles de resistencia antimicrobiana y contribuirá al conocimiento en el área de microbiología de alimentos.

Desde una perspectiva práctica, los resultados servirán para identificar deficiencias en las prácticas de producción, manipulación y comercialización, y serán evidencia para la implementación de medidas correctivas, capacitación y control sanitario.

La investigación contribuirá a la protección de la salud de la población, ya que se evidenciará que el consumo de productos lácteos contaminados afecta la salud. Además, mejorará la calidad e inocuidad alimentaria de los mercados locales.

A escala local, la información es escasa, lo que nos da a ver la necesidad de este estudio. La provincia de Bolívar tiene una economía basada en la ganadería y la agricultura, donde la producción y comercialización de derivados lácteos como el queso, es una actividad económica importante, realizada comúnmente de manera artesanal y sin un control sanitario estricto (Montesdeoca Tamay et al., 2024).

1.3. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar la calidad microbiológica de los quesos frescos expendidos en los mercados del cantón Guaranda y determinar el perfil de resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas.

Objetivos específicos

- Establecer los parámetros fisicoquímicos de los quesos frescos comercializados en los mercados del cantón Guaranda.
- Evaluar los parámetros microbiológicos e identificar la presencia de microorganismos indicadores y patógenos en los quesos frescos analizados.
- Comparar los resultados obtenidos con la normativa microbiológica vigente para productos lácteos y establecer el nivel de inocuidad de los quesos frescos expendidos.
- Determinar los resultados de resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas en los quesos.

1.4. HIPÓTESIS

H₀: Los quesos frescos que se expenden en los mercados del cantón Guaranda, tienen una carga microbiológica inferior a los parámetros permitidos y no existe la presencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos.

H₁: Los quesos frescos que se expenden en los mercados del cantón Guaranda, tienen una carga microbiológica superior a los parámetros permitidos y existe la presencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Generalidades de los productos lácteos

2.1.1. Definición de productos lácteos

Los productos lácteos son alimentos que derivan de la leche de mamíferos. Se obtiene mediante un tratamiento tecnológico que provoca ciertas alteraciones en la materia prima. De esta forma permite obtener productos con propiedades distintas a la leche. De acuerdo con la FAO, la leche es definida como un material biológico altamente nutritivo que contiene proteínas de muy alto valor biológico, lípidos, lactosa, vitaminas y minerales y que es un importante alimento humano. No obstante, su riqueza nutricional la convierte en un medio favorable para el crecimiento de diferentes microorganismos, más si no se emplean buenos procesos de higiene, conservación y transformación (Keba et al., 2020).

Desde la perspectiva de la seguridad alimentaria, los productos lácteos son importantes fuentes de nutrientes para la población mundial. Pero, a la vez, pueden ser un vehículo de transmisión de patógenos si se fabrican o manipulan en condiciones inapropiadas. La calidad e inocuidad de los lácteos, según la FAO, dependen de la calidad de la leche cruda, las condiciones de manufactura y de almacenamiento. Controles a lo largo de la cadena en todas sus etapas (FAO, 2021).

2.1.2. Clasificación de los quesos

El contenido de humedad es uno de los criterios tecnológicos o composicionales que se utilizan para clasificar los quesos. Así, por ejemplo, permite categorizar los quesos frescos, semimaduros y maduros. Esta clasificación no solo toma en cuenta la percepción sensorial y la estructura del producto, sino que también tiene un impacto directo sobre la estabilidad microbiológica; en otras palabras, que los quesos con mayor contenido de agua son más susceptibles a sufrir alteraciones al presentar mayor crecimiento microbiano (Fox et al., 2021).

De este modo, puede decirse que se logran diferentes tipos de quesos según su estructura que resulta de un procedimiento y mezcla de diferentes sustancias. En el

caso de los quesos frescos, la coagulación es principalmente ácida o mixta y no se somete a maduración, lo que afecta a su microbiología y a la reducción del tiempo de conservación. La diversidad de criterios de clasificación permite establecer normas específicas de calidad y evaluar los riesgos involucrados en cada tipo de producto (McSweeney & Fox, 2020).

2.1.3. Queso fresco: características

El queso fresco es un producto lácteo que se obtiene mediante la coagulación de la leche y desuerado. Se caracteriza por no ser madurado, lo que resulta en un queso de sabor suave, textura blanda y con mucha humedad. Este tipo de queso es uno de los más consumidos en América Latina y otras partes del planeta. Su producción suele ser artesanal, que usan muchas veces leche cruda y procesos tradicionales con escaso control sanitario (Montesdeoca Tamay et al., 2024).

Desde un enfoque microbiológico, el queso fresco es considerado un alimento de alto riesgo. Esto se debe tanto a su composición como a las condiciones de elaboración y comercialización. La falta de maduración interfiere en la reducción natural de microorganismos y las prácticas inadecuadas de higiene y almacenamiento generan un ambiente propicio para el crecimiento de bacterias patógenas, convirtiéndose así en un posible vehículo de enfermedades transmitidas por alimentos (Reyes et al., 2023).

2.1.4. Alto contenido de humedad

Una de las características más importantes del queso fresco es que tiene un alto contenido de humedad, que suele ser superior al 50-60% y crea condiciones propicias para el crecimiento microbiano. El alto contenido de agua afecta directamente a la actividad de agua (a_w), un parámetro que mide la disponibilidad de agua para los microorganismos y que provoca la proliferación de bacterias, levaduras y mohos (Fox et al., 2021).

El mayor crecimiento de microorganismos patógenos de importancia en salud pública como *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* se registra en los quesos frescos con un elevado contenido en actividad de agua. Por lo tanto, el control de

la humedad y la creación de condiciones de refrigeración adecuadas son factores que determinan la vida útil y la inocuidad (Aleksic et al., 2024).

2.1.5. pH

El pH es uno de los parámetros fisicoquímicos más importantes en la calidad de los quesos frescos. Influye directamente en su estabilidad microbiológica, textura y propiedades sensoriales. En términos generales, los quesos frescos poseen valores de pH ligeramente ácidos que son el resultado de la fermentación de la lactosa por bacterias ácido-lácticas y que ayudan a coagular la leche y a formar la textura (McSweeney & Fox, 2020).

A pesar de lo dicho, valores de pH muy cerca de la neutralidad pueden propiciar el crecimiento de microorganismos patógenos, sobre todo si se dan condiciones de almacenamiento y manipulación inadecuadas. Múltiples estudios han demostrado que el control del pH limita el crecimiento bacteriano y minimiza el riesgo de contaminación, por lo que es un parámetro utilizado como indicador de calidad de los lácteos (Mendonça et al., 2024).

2.1.6. Vida útil corta

El queso fresco se distingue por tener una corta vida útil, consecuencia de su elevado contenido de humedad, pH propicio y la falta de procesos de maduración que fomentan el crecimiento de microorganismos. A diferencia de los quesos curados, que desarrollan unas condiciones que limitan de forma natural la proliferación bacteriana, se trata de un alimento altamente perecedero (Keba et al., 2020).

La vida útil del queso fresco depende en gran medida de las condiciones donde se conserve, especialmente la temperatura. La ruptura de la cadena de frío en la venta, muy frecuente en el mercado informal, acelera el deterioro del producto y el riesgo de contaminación microbiológica, lo que supone un problema de salud pública (Reyes et al., 2023).

2.2 Calidad microbiológica de alimentos

2.2.1. Microorganismos indicadores

Microorganismos que permiten una evaluación indirecta de la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos a través de su presencia y concentración. Coliformes totales, coliformes fecales y *Escherichia coli* son los más usados. Se consideran indicadores de contaminación fecales y de manipulación y procesamiento de otros productos incorrectos (Jay et al., 2021).

La presencia de estos microorganismos en productos lácteos, sobre todo en quesos frescos, indica fallas en la cadena de producción tales como el uso de leche contaminada, la falta de limpieza de los equipos o mala manipulación por el personal. Diversos estudios han evidenciado altos niveles de coliformes en quesos artesanales, lo que muestra la necesidad de contar con controles en su producción y comercialización (Moreano et al., 2024; Reyes et al., 2023).

2.2.2. Microorganismos patógenos

Microorganismos patógenos son los seres vivos que pueden causar enfermedades en el ser humano, en el caso que se encuentren en los alimentos en suficiente cantidad. En todo el mundo, Esto es Acierto en el caso de los productos lácteos, los patógenos más relevantes incluyen *Escherichia coli* patógena, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* , los cuales han sido ampliamente asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (Keba et al 2020).

La presencia de estos patógenos en quesos frescos puede ser un riesgo importante dado que este tipo de producto, al no tener un proceso de maduración ni un posterior tratamiento térmico, no tiene mecanismos para disminuir su carga microbiana. Además, algunos de estos microorganismos, como *Listeria monocytogenes* , pueden crecer a temperaturas de refrigeración, que aumenta su peligrosidad en el período de almacenamiento (Mendonça et al, 2024).

2.2.3. Importancia del control microbiológico en alimentos

El control microbiológico es una herramienta clave para el aseguramiento de la calidad y seguridad alimentaria y la prevención de enfermedades, control de presencia de microorganismos que permite evaluar las condiciones higiénicas del proceso productivo y controlar la normativa sanitaria, contribuyendo a la defensa de la salud del consumidor, según la FAO (2021).

A los quesos frescos, en los que el control microbiológico cobra mayor importancia debido a su alta susceptibilidad a contaminación y producción en sistemas artesanales. La implementación de controles, buenas prácticas y vigilancia microbiológicas reducirán el riesgo y mejorarán la inocuidad de estos productos (Aleksic et al., 2024) .

2.2.4. Normativas microbiológicas (INEN, FAO, WHO)

Las normas microbiológicas establecen los límites permisibles de microorganismos en los alimentos con el fin de que estos sean seguros para el consumo. En Ecuador, se cuentan con normativas de calidad como las normas INEN que establecen parámetros microbiológicos para los productos lácteos valores máximos permisibles coliformes *Escherichia coli* y otros indicadores de contaminación que deben cumplir un producto para su comercialización (INEN, 2020).

A nivel internacional, organismos como la FAO y la OMS han desarrollado orientaciones sobre el control microbiológico de los alimentos, recomendando la implantación de sistemas como el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC). La WHO y la FAO han propuesto varias normas y orientaciones para estandarizar criterios de evaluación microbiológica y reforzar sistemas de control sanitario en la industria alimentaria (WHO, 2021; FAO, 2021).

2.3 Microorganismos asociados a quesos frescos

2.3.1. *Escherichia coli*

La bacteria *Escherichia coli* pertenece a la familia enterobacteriaceae son un signo negativo y se encuentra cosmopolita en los humanos. Su presencia en alimentos es

considerado un contaminante fecal, que confirma la pobreza de las condiciones higiénicas de su producción y manipulación. En el caso de productos lácteos como el queso fresco, esta bacteria puede ingresar mediante la mezcla de leche cruda contaminada o mala práctica de manipulación, siendo un riesgo elevado para el consumidor (García-Díez & Saraiva, 2021)

Además de su valor como indicativo sanitario, algunas cepas de E. Las cepas de E. coli, como las productoras de toxina Shiga (STEC), poseen un alto potencial patogénico. Según recientes estudios, se ha mostrado que la presencia de E. La presencia de E. coli en quesos frescos artesanales ocurre en contextos donde no se cumplen las buenas prácticas de manufactura. Asimismo, su presencia debe ser monitoreada continuamente como parámetro de inocuidad alimentaria (Moraes et al., 2022).

2.3.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva que está ampliamente distribuida en la piel, en la cavidad nasal y en las mucosas de humanos y animales. Este bacteriano se considera como uno de las principales fuentes de contaminación de los alimentos manipulados. En el caso de los quesos frescos, se relacionan directamente con la manipulación por el operario y la falta de higiene de los utensilios y la superficie en el proceso de elaboración (Argudín et al., 2020).

Se trata de un microorganismo que resulta importante en la microbiología de los alimentos, debido a que es capaz de producir enterotoxinas termoestables productoras de intoxicaciones, que se puede producir en los alimentos sin que existan bacterias viables (Kadariya et al., 2021).

2.3.3. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes es una gran preocupación para la salud pública, ya que causa listeriosis, que puede ser mortal. Es un patógeno intracelular facultativo y puede causar algunos casos de meningitis. Esta bacteria es resistente a las condiciones ambientales. Además, puede crecer a temperaturas de refrigeración. Por esta razón es una bacteria persistente en los alimentos listos para el consumo

como los quesos frescos (Carpentier & Cerf, 2021).

La *Listeria monocytogenes* en quesos frescos puede estar presente por haber utilizado leche cruda contaminada o por contaminación cruzada en el ambiente de elaboración. Según estudios recientes, esta bacteria puede estar presente en superficies y equipos de procesamiento durante periodos prolongados, facilitando su diseminación en la cadena productiva. La detección de las Alerófilas es muy importante en estudios microbiológicos, ya que presenta una alta virulencia y tiene la capacidad de sobrevivir en condiciones que inhiben a otros microorganismos (Ricci et al., 2023).

2.3.4. Coliformes totales y fecales

Las bacterias coliformes totales y fecales son un grupo de microorganismos que han sido usados como indicativo de calidad higiénico-sanitaria de alimentos en especial productos lácteos. La presencia de este microorganismo está relacionada con deficiencias en el manejo, producción o almacenamiento, así como por contaminación ambiental o fecal. En general, estos microorganismos son extensamente empleados en la valoración microbiológica y por su capacidad de detección y su valor como tasa de posible presencia de patógenos (Bintsis, 2021).

En el caso de quesos frescos artesanales se identifican altos niveles de coliformes, problema más frecuente en sistemas de producción informal, que no están sujetos a ningún tipo de control sanitario. Las investigaciones revelaron que los altos recuentos de coliformes son atribuibles al uso de leche cruda que se lleva a cabo en el proceso de elaboración, el incumplimiento de medidas higiénicas y que ruptura de la cadena de frío comercial se convierte en un factor de riesgo para su inocuidad (Pal et al. 2020).

2.4. Factores que influyen en la contaminación microbiológica

2.4.1. Factores intrínsecos

Los factores intrínsecos son aquellos que son específicos del alimento, por lo que influyen en la proliferación y desarrollo de microbiológicos. Los encontramos el

pH y la composición nutricional. La composición de estos productos es muy apropiada para la proliferación microbiana, dado el contenido elevado de nutrientes que poseen y el pH ligeramente ácido. Ello permitiría el crecimiento de bacterias alterantes y también de tipo patógeno (Singh & Prakash, 2022).

Además, los quesos frescos suelen tener una actividad de agua elevada, lo que hace que la cantidad de agua libre disponible para los microorganismos favorezca su multiplicación. Los quesos frescos son muy susceptibles a la contaminación microbiológica al no madurar y en condiciones de conservación no ideales (Bintsis, 2022).

2.4.2. Factores extrínsecos

Los factores extrínsecos tienen que ver con las características ambientales y ajenas al alimento que afectan el crecimiento microbiano. Los factores resaltantes son la temperatura de almacenamiento, la humedad ambiental, la acción del aire y el tiempo de conservación. En el caso de los quesos frescos, la temperatura es uno de los factores más críticos ya que valores superiores a los recomendados favorecen la proliferación rápida de microorganismos patógenos (Kumar et al., 2021).

La exposición del producto a las condiciones ambientales desfavorables durante todo el proceso de comercialización, en especial en mercados abiertos, está asociado a un riesgo creciente de contaminación por contacto con superficies, utensilios o el ambiente. En etapas de exhibición prolongadas y sin refrigeración con cambios se suman a las condiciones que conducen a un daño microbiano (Sichewo et al., 2020).

2.4.3. Manipulación e higiene

La manipulación de los alimentos es uno de los factores más asociados a contaminación microbiológica, como por ejemplo el queso fresco que es muy susceptible a la contaminación posproceso. Falta de higiene personal de los manipuladores, utilización inadecuada de utensilios y la ausencia de prácticas sanitarias adecuadas favorecen la transferencia de microorganismos patógenos al alimento (Addis & Sisay, 2021).

La contaminación bacteriana por *Staphylococcus aureus* está relacionada con el contacto humano por manipulación, según diversos estudios. La falta de formación en buenas prácticas de manufactura contribuye igualmente a los riesgos microbiológicos en la cadena de producción y comercialización de productos lácteos. (Gizaw, 2019; actualizada en revisiones recientes Addis y Sisay, 2021).

2.4.4. Ruptura de la cadena de frío

La cadena de frío es un factor determinante para la conservación de la calidad microbiológica de los alimentos, ya que permite limitar el crecimiento de microorganismos, a través del control de la temperatura. Cuando se interrumpe esta cadena, por el transporte, almacenamiento o comercialización se favorece la multiplicación de bacterias, lo que se traduce en una reducción de la vida útil del producto y en un problema sanitario (Ledenbach & Marshall, 2020) en el caso de los quesos frescos.

La refrigeración inadecuada en los mercados informales es uno de los principales causantes del deterioro microbiológico del queso fresco. Los estudios demuestran que, cuando la temperatura a la que se expone al alimento supera los 10 °C, existe un incremento de la carga bacteriana, sobre todo de coliformes y patógenos, que compromete la inocuidad del alimento (Aung & Chang, 2021).

2.4.5. Manipulación en los mercados

La comercialización de quesos frescos en mercados tradicionales representa un factor clave de contaminación microbiológica por las condiciones de exposición del producto. En estos ambientes los alimentos no están sometidos a protección, y se encuentran expuestos a la contaminación por el medio ambiente, polvo, insectos, manipulación y otros, por lo que se favorecen las contaminaciones cruzadas (Grace, 2021).

El limitado estado de la infraestructura y la falta de control sanitario en estos mercados impiden que se puedan aplicar buenas prácticas de higiene y conservación. Las pruebas revelaron que los productos lácteos comprados en mercados informales tenían más contaminación microbiológica que los

comercializados en el sistema formal. Esto indicaría la necesidad de fortalecer los controles en estos entornos. (Mwangi et al. 2022).

2.5 Parámetros fisicoquímicos en quesos frescos

2.5.1. Humedad

La calidad de los quesos frescos está determinada por la humedad. Este factor está relacionado con la textura, estabilidad y deterioro microbiológico del queso. Los quesos frescos tienen un alto contenido en humedad, que suele superar el 50%, así como una textura blanda. Por otro lado, ello aumenta el riesgo de la proliferación microbiana por su alta actividad (Guinee et al., 2021).

Los quesos que contienen más humedad poseen más carga microbiana, en especial cuando se guardan inadecuadamente. Por lo tanto, este parámetro es importante para la evaluación de la inocuidad del producto (Bianchi et al., 2020).

2.5.2. Acidez titulable

La acidez titulable indica la concentración de ácidos presentes en el queso, principalmente de ácido láctico y este a su vez se genera en la fermentación de la lactosa. Este parámetro está muy conectado al pH, pero permite medir la cantidad total de ácidos y proporciona una idea de cuán fermentado está el producto, así como su calidad (Fox et al., 2021).

La acidez titulable en los quesos frescos suele presentar valores que no son peligrosos debido a la ausencia de añejamiento. No obstante, alteraciones en este parámetro pueden señalar inconvenientes en el proceso de elaboración o en el almacenamiento. La acidez puede ser un buen indicador para el deterioro microbiano. Ciertos valores bajos pueden asociarse con una baja fermentación, mientras que ciertos valores elevados podrían asociarse con deterioro microbiano (Ong et al., 2021).

2.5.3. Temperatura de exhibición

La temperatura en que se exhiben los quesos frescos es un parámetro importante

para su calidad fisicoquímica y microbiológica. Este tipo de producto debe ser refrigerado para que no se altere ya que el calor favorece el desarrollo de microorganismos y acelera la putrefacción (Montel et al. 2022).

En contextos de comercialización informal, no son infrecuentes las exposiciones de quesos frescos a temperaturas ambiente superiores a las recomendadas. Esto incrementa las cargas microbianas y disminuye su vida útil. Las temperaturas, que por encima de 10 °C durante la exhibición favorecen el crecimiento de las bacterias patógenas, evidencian la importancia del control de la temperatura como componente básico de la seguridad alimentaria (Domínguez et al., 2021).

2.5.4. Relación de los parámetros fisicoquímicos con el crecimiento microbiano

Los parámetros fisicoquímicos de los quesos frescos actúan en conjunto para determinar su susceptibilidad al desarrollo microbiano. El pH, la humedad y la temperatura son factores que forman un medio favorable o desfavorable para el desarrollo de microorganismos, según los valores que tomen y sus interacciones. A raíz de su elevado contenido de humedad, su pH cercano a la neutralidad y, sobre todo, unas temperaturas inapropiadas favorecen que los quesos frescos se desarrollen en condiciones favorables para que aparezcan y proliferan bacterias patógenas (Delgado et al., 2020).

Diversos estudios han demostrado que la interacción de estos factores es determinante en la calidad microbiológica del producto. Esto se debe a que pequeñas variaciones pueden influir en la carga bacteriana. Por esta razón, el control de los parámetros fisicoquímicos es fundamental en la producción y comercialización de quesos frescos, permitiendo reducir riesgos sanitarios y garantizar la inocuidad del alimento (Silva et al., 2022).

2.6 Resistencia a fármacos

2.6.1. Mecanismos de resistencia

Los microorganismos pueden adquirir resistencia antimicrobiana por diferentes mecanismos, entre ellos destacan la producción de una o más enzimas que inactivan

esta, la modificación de los sitios diana, la baja permeabilidad celular y expulsión activa del antimicrobiano (bombas de eflujo). Los mecanismos mencionados pueden obtenerse por mutaciones a nivel genético o por transferencia horizontal (gene transfer) entre bacterias (Blair et al., 2021).

La transferencia horizontal de genes de resistencia (por medio de plásmidos, transposones e integrones) es un proceso que resulta crucial para la diseminación de la resistencia entre especies bacterianas. Este proceso resulta especialmente relevante en entornos en los que coexisten múltiples microorganismos, como en los alimentos de origen animal, donde las bacterias pueden intercambiar material genético y adquirir nuevas capacidades de resistencia (Partridge et al., 2021)

2.6.2. Uso de antibióticos en producción animal

El uso de antibióticos en la producción animal es uno de los principales responsables del desarrollo y diseminación de resistencia antimicrobiana. Los fármacos mencionados son empleados no sólo con fines terapéuticos sino también como promotores de crecimiento y para la prevención de enfermedades, en muchos casos sin control, lo que favorece la selección de bacterias resistentes (Van Boeckel et al., 2020).

En estos sistemas intensivos, el uso frecuente de antibióticos crea una presión de selección sobre las poblaciones bacterianas. De esta manera, las cepas resistentes tienen mejores condiciones para sobrevivir. Estas pueden transmitirse al hombre a través de la cadena alimentaria. En el caso de los lácteos, lo anterior resulta muy pertinente cuando se utilizan antibióticos en vacas lecheras sin respetar los periodos de retiro, cuya consecuencia es la llegada con la leche y sus derivados de bacterias resistentes (Tang et al., 2020).

2.6.3. Impacto en salud pública

La resistencia antimicrobiana se revela como una de las principales amenazas a la salud pública en todo el mundo. La OMS indicó que la RAM afecta la capacidad de tratar infecciones comunes y aumenta el riesgo de propagación, complicaciones graves y muerte (WHO, 2021).

En el campo de la inocuidad alimentaria, la presencia de bacterias resistentes en alimentos como los quesos frescos representan un riesgo ya que pueden ser reservorios de los genes de resistencia. Puede provocar infecciones y transferencia de genes de resistencia a la microbiota humana puede ser un problema de salud pública (Founou et al., 2021).

2.7 Resistencia antimicrobiana

2.7.1. Resistencia antimicrobiana en bacterias transmitidas por alimentos

La resistencia antimicrobiana en bacterias de origen alimentario, se ha convertido en un problema global, ya que estos microorganismos son capaces de ser reservorios y vectores de estos genes de resistencia. Los alimentos, en particular los de origen animal como los productos lácteos, pueden encontrarse con que contienen bacterias resistentes que se originan en el ambiente de producción primaria, procesamiento o manipulación y se transmiten al consumidor. (Marshall & Levy, 2020).

Este fenómeno es preocupante en sistemas de producción por la frecuente administración de los antimicrobianos que estas bacterias desarrollan mecanismos de resistencia y se pueden mantener a lo largo de la cadena alimentaria. La ingesta de esos microorganismos puede ayudar a la colonización del tracto gastrointestinal humano, creando un reservorio interno de resistencia que obstaculiza el tratamiento de infecciones posteriores. (Economou & Gousia, 2021)

2.7.2. Resistencia en *Escherichia coli*

Escherichia coli es uno de los principales microorganismos empleado a manera de un indicador de resistencia antimicrobiana en alimento, debido a su capacidad para fácilmente incorporar y transferir genes de resistencia. En productos lácteos, diversos estudios han detectado cepas resistentes a diferentes antibióticos de uso común como: penicilinas, cefalosporinas, entre otros, riesgo de salud pública (Rizzo et al, 2021)

La oposición en E. La producción de enzimas tipo β -lactamasas, que inactivan a los

antibióticos β -lactámicos; así como la presencia de genes de resistencia localizados en plásmidos transferibles. Estudios recientes han revelado que cepas aisladas de alimentos muestran perfiles de multiresistencia. Lo que complica el tratamiento de infecciones y demuestra la importancia de seguir con el monitoreo de este microorganismo en estudios de inocuidad de alimentos (Nguyen et al., 2022).

2.7.3. Resistencia en *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus tiene un gran impacto en la resistencia antimicrobiana en alimentos. A su vez, este microorganismo puede desarrollar resistencia a antibióticos como penicilina y meticilina. Este agente patógeno se aísla en más ocasiones en productos lácteos, cuya contaminación se atribuye tanto a la producción como a la manipulación del alimento (Tong et al., 2020).

La firmeza en S. La resistencia de S. aureus es debida principalmente a la producción de enzimas como las penicilinasas y a la adquisición de genes como mecA. Los científicos han autorizado el uso de estreptomicina en frutas y hortalizas para el control de hongos. Pero se teme que pueda dar lugar a la selección de cepas resistentes que posteriormente podrían ser transferidas a los consumidores.

2.7.4. Importancia en la inocuidad alimentaria

La presencia de bacterias resistentes en alimentos de consumo humano, como los quesos frescos, puede no solo causar infección. También la transferencia de los genes de resistencia al microbiota del consumidor. Los alimentos se han convertido en el eslabón de transmisión de la resistencia antimicrobiana más importante, ya que permiten la expansión del problema más allá del ámbito clínico (Ferrari et al., 2022)

En este orden de ideas, la vigilancia de la resistencia antimicrobiana en bacterias de origen alimentario es necesarias para hacer un diseño de control y prevención. La aplicación de programas de vigilancia y el uso responsable de antimicrobianos para la producción animal son claves para evitar resistencias y asegurar el establecimiento de la seguridad alimentaria de los productos para el consumo humano (Aslam et al., 2021).

2.8 Métodos microbiológicos aplicados a alimentos

2.8.1. Técnicas de cultivo microbiológico

Las actividades de cultivo permiten detectar, cuantificar e identificar microorganismos de origen alimentario, evaluando así la calidad e inocuidad alimentaria. Estas técnicas se basan en la siembra de muestras en un medio de cultivo idóneo que favorezca el desarrollo de un microorganismo determinado bajo condiciones controladas de temperatura, tiempo y ambiente. En la analítica de lácteos, el uso de diluciones seriadas y siembra en placa es esencial para el recuento microbiano que se expresa en unidades formadoras de colonias por gramo, UFC/g (Downes & Ito, 2020).

El cultivo microbiológico permite no solo cuantificar microorganismos indicadores, sino también el aislamiento de bacterias patógenas en los alimentos. Esta técnica se emplea ampliamente en estudios de inocuidad alimentaria y debido a su precisión y confiabilidad, se ha convertido en un estándar de método en laboratorio de microbiología de alimentos. Su uso en quesos frescos es relevante porque estos son muy susceptibles a la contaminación microbiana (Feng et al., 2020).

2.8.2. Medios selectivos y diferenciales

Los medios de cultivo selectivos y diferenciales son una herramienta clave en la microbiología de alimentos, que permiten el crecimiento de microorganismos deseados mientras se inhiben otros, facilitando la identificación de los mismos. En el análisis de quesos frescos se utilizan medios como el agar MacConkey para la detección de bacterias Gram negativas y coliformes, y medios selectivos como el agar PAICAM para verificar la presencia de *Listeria monocytogenes* (Hitchins et al, 2020).

El medio PAICAM se utiliza para el aislamiento de *Listeria monocytogenes*, el *Clostridium botulinum* y *Listeria* spp, mediante cambios en el color del medio y la morfología de las colonias. Este medio contiene agentes que inhiben la flora acompañante, así como compuestos diferenciales que permiten determinar la

actividad bioquímica de *Listeria*. Se considera un medio clave en los estudios de calidad microbiológica de los alimentos (Jadhav et al., 2021).

2.8.3. Identificación bioquímica de microorganismos

La identificación bioquímica de microorganismos es una etapa del estudio microbiológico, ya que ayuda a confirmar la existencia de especies bacterianas a partir de las características metabólicas. Entre las pruebas más recurrentes están la catalasa, coagulasa, oxidasa y fermentación de azúcares, con las que se consigue diferenciar bacterias patógenas a otros microorganismos de los alimentos. (Quinn et al, 2021)

El resultado de nuestras pruebas está disponible para la consulta del cliente y es elaborado por uno de nuestros especialistas en el área, debidamente firmado. La técnica de cultivo más prueba bioquímicas, que brinda resultados fiables y reproducibles, se emplea con frecuencia en estudios de inocuidad alimentaria (Markey et al., 2022).

2.8.4. Técnica de difusión en disco (Kirby-Bauer)

El método de difusión en disco o método de Kirby-Bauer, es una de las técnicas más empleadas para la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana de bacterias aisladas de alimentos. Este método se realiza colocando discos impregnados de antibiótico sobre un medio de cultivo previamente inoculado, observándose la inhibición del crecimiento en el medio alrededor de los discos (CLSI, 2020).

Los resultados de esta técnica se interpretan a partir de la medida de los halos de inhibición, donde los microorganismos serán clasificados como sensibles, intermedios o resistentes, según el caso. Su aplicación en estudios de microbiología de alimentos sirve para identificar la resistencia a antimicrobianos en bacterias que se encuentran en los quesos frescos, lo que puede ayudar en el riesgo sanitario (Balouiri et al., 2020).

2.9. Antimicrobianos utilizados en la evaluación de susceptibilidad bacteriana

2.9.1. Penicilina

Penicilina está incluida dentro del grupo de los antibióticos β -lactámicos que inhiben la síntesis de la pared celular de la bacteria mediante su unión a las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), provocando su lisis. Este antibiótico se utiliza ampliamente en medicina humana y veterinaria, considerado uno de los antibióticos más antiguos del mercado para tratar infecciones bacterianas. No obstante, su uso prolongado ha favorecido la aparición de mecanismos de resistencia y en particular del tipo de producción de β -lactamasas inactivadoras de antibióticos (Bush & Bradford, 2020).

En la microbiología de alimentos, la penicilina se utiliza como marcador en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana, dado que la resistencia se ha observado en frecuencias elevadas en bacterias aisladas de alimentos de origen animal. Según diversos estudios, se han reportado niveles elevados de resistencia a este antibiótico en bacterias que se encuentran en los alimentos, como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, lo que lo convierte en un importante indicador del uso no adecuado de antimicrobianos en la producción pecuaria (Ventola, 2021).

2.9.2. Ampicilina

La ampicilina es un antibiótico que pudo ampliarse. Es un antibiótico semisintético del grupo de las penicilinas de amplio espectro, que actúa también inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana. A diferencia de la penicilina, es más eficaz frente a las bacterias Gram negativas, y es un medicamento cada vez más utilizado en el tratamiento de infecciones bacterianas en humanos y animales (Kaur et al, 2020).

Sin embargo, el uso masivo de ampicilina ha resultado en la resistencia de muchas especies de bacterias, principalmente a través de la producción de β -lactamasas y la modificación de proteínas diana. Se ha observado en estudios de microbiología de los alimentos, que aislados de productos lácteos pueden tener un alto nivel de resistencia a este antibiótico. Esto es un riesgo para la salud pública, el cual

demuestra la importancia de su monitorización en pruebas de susceptibilidad (Elbediwi et al., 2021).

2.9.3. Importancia de los antibióticos β -lactámicos en estudios de resistencia.

Los antimicrobianos β -lactámicos como la penicilina y la ampicilina son recomendados para pruebas de susceptibilidad, ya que son de interés clínico y presentan resistencia común en bacterias de origen alimentario. Estos medicamentos se consideran de primera línea para el tratamiento de una multitud de infecciones bacterianas, la detección de resistencia en los microorganismos aislados de los alimentos tiene repercusiones en la salud pública (Pérez-Rodríguez & Mercanoglu Taban, 2020).

La evaluación de la resistencia a estos antibióticos con técnicas tales como el método Kirby-Bauer, permiten el reconocimiento de patrones de susceptibilidad y la detección de cepas resistentes o multiresistentes. Esta información es clave para entender la dinámica de la resistencia antimicrobiana en la cadena alimentaria y para establecer medidas de control que contribuyan a la detención de la diseminación, de los alimentos a la población, de las bacterias resistentes (O'Neill, 2021).

CAPÍTULO IV MARCO METODOLÓGICO

3.1. Materiales

3.1.1. Localización de la investigación

El experimento se realizó en la ciudad de Guaranda, provincia de Bolívar, y la recolección de muestras se ejecutó en los principales mercados de la ciudad

Tabla 1.

Situación geográfica y edafoclimática

Categoría	Descripción
Región Geográfica	Sierra ecuatoriana
Altitud Promedio	2.668 m s. n. m.
Superficie Total	786 km ²
Temperatura máxima	25°C
Temperatura media	15°C
Temperatura mínima	Entre 10°C y 25°C
Precipitación promedio anual	500 a 1.000 mm

Fuente: (Estación Meteorológica de la Universidad Estatal de Bolívar 2019).

3.1.2. Zona de vida

Según Leslie Holdridge, el cantón Guaranda está ubicado en la zona de Vida de Bosque Montano Bajo húmedo, que se caracteriza por tener temperaturas moderadas. Así mismo, su temperatura es moderada, en este caso por regiones andinas.

3.2. Metodología

3.2.1. Material experimental

- 60 muestras de quesos frescos

3.2.2. Factores en estudio

Variable independiente: Mercado de procedencia

Variables dependientes:

- Recuentos microbiológicos (UFC/g)
- Identificación bacteriana
- Perfil de resistencia antimicrobiana
- Características fisicoquímicas del producto

3.2.3. Tratamientos

No se aplicaron tratamientos experimentales, únicamente se analizaron los aislamientos bacterianos de cada muestra.

3.2.4. Tipo de análisis

Los datos obtenidos durante los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y determinación de resistencia antimicrobiana fueron organizados y digitalizados en hoja de cálculo de Microsoft Excel. A partir de los datos así digitalizados, se realizó una depuración inicial de los datos. Luego el procesamiento estadístico se realizó usando el software Statgraphics. Se aplicó estadística descriptiva para el cálculo de medias, desviaciones estándar y frecuencias relativas de las variables.

3.2.5. Métodos de evaluación y datos a tomarse

1. Recuentos microbiológicos (UFC/g o NMP/g):

- Coliformes totales

- *E. coli*

- *Staphylococcus aureus*

- *Listeria monocytogenes*

2. Identificación bacteriana:

- Género y especie mediante pruebas bioquímicas:

a) Tinción de Gram.

La tinción de Gram fue utilizada como prueba inicial para la clasificación básica de microorganismos aislados. Las muestras observadas al microscopio mostraron la existencia de bacterias Gram Negativas o Gram Positivas.

b) Prueba de catalasa.

La prueba de catalasa se usó para la diferenciación de géneros de cocos Gram positivos, se observó la prueba positiva al introducir una colonia en una gota de peróxido en formación de burbujas; de igual manera, se observó la negativa, al no formar burbujas.

c) Prueba de Oxidasa

La prueba de la oxidasa identificó la presencia de la enzima citocromo oxidasa. Se realizó un proceso de colocar discos de oxidasa en una colonia de cada cultivo de bacterias. Se coloca una gota de agua destilada en el portaobjetos, y si es positiva se observa un color azul o violeta. En el caso de las negativas toma color amarillo.

3. Perfil de resistencia antimicrobiana:

Utilizando discos que contienen antibióticos, se determinó el halo de inhibición en milímetros utilizando la técnica de Kirby-Bauer en agar Mueller-Hinton, los fármacos utilizados fueron:

- Penicilina

- Ampicilina

4. Características fisicoquímicas del producto:

- pH

- Humedad

- Acidez titulante

- Temperatura de exhibición

3.2.6. Manejo del experimento

La fase de campo del estudio consistió en la recolección de muestras de queso fresco, que se realizó de manera directa en los principales mercados del cantón Guaranda. Estos mercados son: Bellavista, 10 de Noviembre y Guanujo. El muestreo se realizó de manera no probabilística por conveniencia eligiendo diferentes puestos de venta a fin de que se tuviesen condiciones de manipulación, almacenamiento y exposición del producto diferentes.

En cada uno de los puntos de muestreo, las muestras fueron adquiridas como un consumidor cotidiano, lo que evitó modificar las condiciones normales de comercialización. Se recogió entre 200 y 300 g de queso fresco por muestra, las cuales fueron colocadas en bolsas estériles debidamente rotuladas y se registró la fecha, el mercado y las condiciones de exhibición, es decir, la temperatura ambiente, tipo de exhibición y grado de higiene visible.

Seguidamente, las muestras fueron prestadas a una hielera con refrigerantes manteniendo aproximadamente 4 °C para su desplazamiento al laboratorio, buscando preservar sus características fisicoquímicas y microbiológicas. El intervalo entre la recolección y el análisis no fue superior a 5 horas, lo cual asegura la veracidad de los resultados.

Una vez en laboratorio las muestras fueron destinadas para realizar análisis fisicoquímicos y el análisis microbiológico correspondiente, que consistió en el recuento de coliformes totales, fecales y *E. coli*, la identificación de *S. aureus* y la

búsqueda de *L.monocytogenes* por cultivo en PAICAM. También se realizaron pruebas de susceptibilidad a partir de los aislamientos bacterianos.

Durante la etapa de campo también se observó directamente la situación higiénico-sanitario de los puestos de venta, analizando la manipulación, exposición al ambiente y presencia de contaminantes, que permitió complementar e interpretar los resultados de los análisis realizados.

Análisis de datos

Los datos obtenidos durante los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y determinación de resistencia antimicrobiana fueron organizados y digitalizados en hoja de cálculo de Microsoft Excel. A partir de los datos así digitalizados, se realizó una depuración inicial de los datos. Luego el procesamiento estadístico se realizó usando el software Statgraphics. Se aplicó estadística descriptiva para el cálculo de medias, desviaciones estándar y frecuencias relativas de las variables.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Parámetros fisicoquímicos de los quesos frescos comercializados en los mercados del cantón Guaranda.

Tabla 2.

Parámetros fisicoquímicos del queso fresco

Parámetro	Bellavista (n=25)	10 de noviembre (n=20)	Guanujo (n=15)	Media general	Norma INEN
pH	6.58 ± 0.18	6.51 ± 0.20	6.49 ± 0.22	6.53	6.2–6.8
Humedad (%)	60.1 ± 4.3	57.4 ± 4.6	56.8 ± 4.9	58.3%	≤ 60%
Acidez titulable (%)	0.47 ± 0.09	0.41 ± 0.10	0.38 ± 0.12	0.42%	0.28–0.50
Temperatura de exhibición (°C)	19.1 ± 2.3	17.5 ± 2.5	16.2 ± 2.2	17.8°C	≤10°C recomendada

Los parámetros fisicoquímicos evaluados en los quesos frescos comercializados en los mercados del cantón Guaranda evidenciaron variaciones entre los puntos de expendio, particularmente en la temperatura de exhibición, humedad y pH.

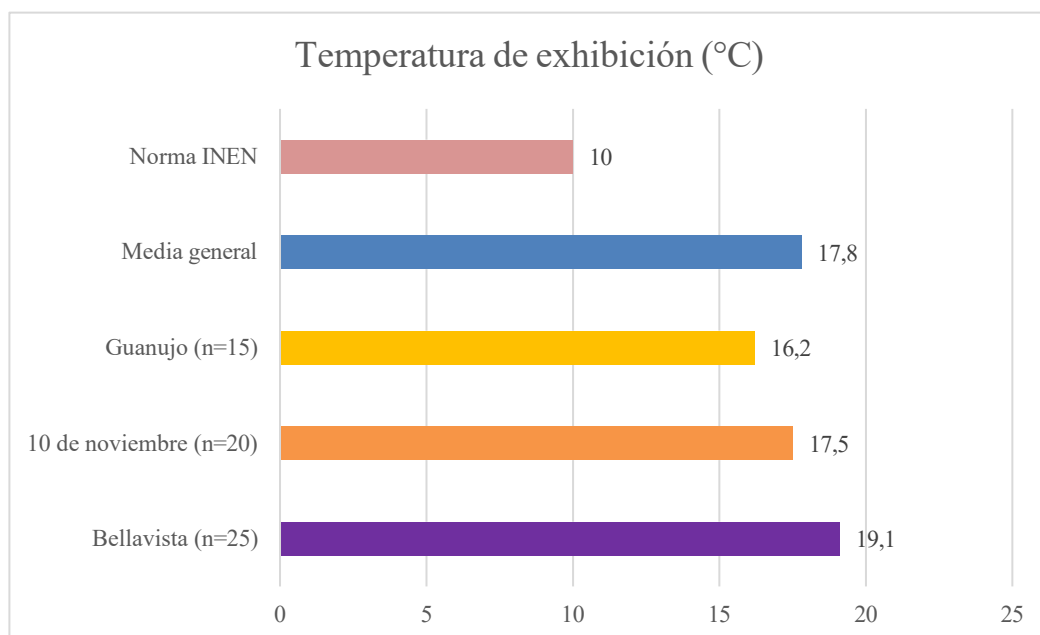
El pH promedio de las muestras (6.53) se encontró dentro del rango establecido por la normativa INEN (6.2–6.8), lo que indica condiciones adecuadas desde el punto de vista de acidez. Sin embargo, estos valores cercanos a la neutralidad pueden favorecer el crecimiento de microorganismos patógenos, especialmente en condiciones de almacenamiento inadecuadas.

En relación con la humedad, se registró un valor promedio de 58.30%, con el mercado Bellavista alcanzando valores cercanos al límite máximo permitido (60%), lo que sugiere una mayor disponibilidad de agua para el desarrollo microbiano.

La acidez titulable presentó valores dentro del rango permitido (0.28–0.50%), lo que indica que, desde el punto de vista químico, el producto no presenta alteraciones significativas asociadas a procesos de fermentación anormal.

Por otro lado, la temperatura de exhibición mostró valores considerablemente superiores al recomendado ($\leq 10^{\circ}\text{C}$), con un promedio general de 17.8°C , siendo Bellavista el mercado con mayor temperatura (19.1°C). Esta condición representa un factor crítico que favorece la proliferación bacteriana

Figura 1. Temperatura de quesos frescos en exposición.



En conjunto, aunque algunos parámetros se encuentran dentro de los límites normativos, la combinación de alta humedad y temperaturas inadecuadas crea condiciones favorables para el crecimiento microbiano, lo cual se ve reflejado en los resultados microbiológicos obtenidos.

Parámetros microbiológicos e identificación de microorganismos en los quesos frescos analizados.

Tabla 3.

Recuentos microbiológicos

Microorganismo	Bellavista (UFC/g)	10 de noviembre (UFC/g)	Guanujo (UFC/g)	Límite INEN
Coliformes totales	1.8×10^5	1.4×10^5	1.3×10^5	$\leq 10^2$
Coliformes fecales	5.2×10^4	4.1×10^4	4.4×10^4	Ausencia
<i>E. coli</i>	3.8×10^4	2.9×10^4	3.1×10^4	Ausencia

Los recuentos microbiológicos obtenidos evidenciaron una elevada carga de microorganismos indicadores en las muestras de queso fresco comercializadas en los tres mercados del cantón Guaranda. Los coliformes totales registraron valores entre 1.3×10^5 y 1.8×10^5 UFC/g, superando ampliamente el límite permitido por

la normativa INEN. De igual manera, los coliformes fecales estuvieron presentes en todos los mercados analizados, pese a que normativamente debería existir ausencia, lo que revela deficiencias higiénico-sanitarias durante la producción, manipulación o expendio del producto.

La detección de *Escherichia coli* en concentraciones entre 2.9×10^4 y 3.8×10^4 UFC/g confirma contaminación de origen fecal y constituye un hallazgo relevante desde el punto de vista sanitario, ya que su presencia indica fallas en la calidad de la materia prima, contaminación cruzada o inadecuadas prácticas de higiene a lo largo de la cadena de comercialización.

Tabla 4.

Identificación bacteriana por técnicas de cultivo y bioquímicas

Microorganismo identificado	Bellavista (n=25)	10 de noviembre (n=20)	Guanaju (n=15)	Total	Medio de cultivo
<i>Escherichia coli</i>	15	10	4	29	Agar MacConkey
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	11	6	33	Agar Manitol Salado
<i>Listeria monocytogenes</i>	4	2	1	7	Agar PALCAM

Los resultados de la identificación microbiológica evidencian la presencia de microorganismos indicadores y patógenos en los quesos frescos comercializados en los mercados del cantón Guaranda. *Staphylococcus aureus* fue el microorganismo más frecuente, con un total de 33 aislamientos, seguido de *Escherichia coli* con 29 casos, mientras que *Listeria monocytogenes* se detectó en menor proporción, con 7 aislamientos. Estos resultados reflejan una alta carga microbiológica en los productos evaluados, lo cual constituye un indicador de deficiencias en las condiciones higiénico-sanitarias durante la producción, manipulación y comercialización.

Figura 2. Prueba de catalasa (+)



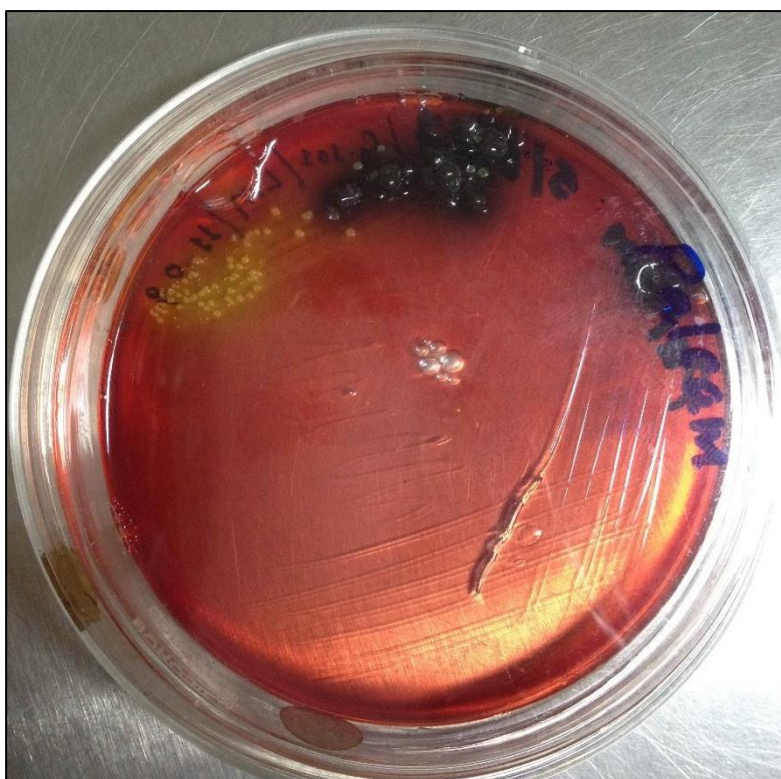
Al analizar la distribución por mercados, se observa que Bellavista presentó el mayor número de aislamientos para los tres microorganismos evaluados, con 15 casos de *E. coli*, 16 de *S. aureus* y 4 de *L. monocytogenes*. Por su parte, el mercado 10 de noviembre registró valores intermedios, mientras que Guanujo presentó los menores recuentos. Esta tendencia sugiere una posible relación entre las condiciones de expendio y la carga microbiológica del producto, siendo Bellavista el mercado con mayor compromiso sanitario.

El estudio de Reyes et al. (2023) reporta una alta prevalencia de *E. coli* (97%) y *Staphylococcus aureus* (57%) en quesos frescos no pasteurizados, valores muy superiores a los límites de referencia. Estos hallazgos son comparables con los resultados de nuestra investigación, donde también se encontraron concentraciones elevadas de coliformes y microorganismos patógenos atribuibles a deficiencias higiénicas en la producción y manipulación.

Los resultados de Castellanos-Rozo et al. (2021) muestran niveles elevados de coliformes fecales, *Staphylococcus spp.* y *Listeria monocytogenes* en quesos semimaduros elaborados artesanalmente, superando los límites sanitarios establecidos y evidenciando diferencias marcadas entre microempresas formales e informales. Esta tendencia coincide con nuestra investigación, donde también se

detectaron altos recuentos de coliformes y presencia de patógenos indicadores de malas prácticas higiénicas. La coincidencia en la detección de *E. coli* y la resistencia antimicrobiana en parte de los aislados refuerza la importancia de evaluar tanto la carga microbiana como la sensibilidad a antibióticos, dado que los productos lácteos artesanales pueden servir como vehículos de transmisión de cepas resistentes y comprometer la salud pública

Figura 3. Medio de cultivo PALCAM



Los resultados obtenidos evidencian una alta prevalencia de microorganismos indicadores y patógenos en los quesos frescos analizados, lo cual coincide con lo reportado en estudios recientes sobre productos lácteos artesanales, donde se ha demostrado que este tipo de alimentos presenta una elevada susceptibilidad a la contaminación microbiológica debido al uso de leche cruda, deficiencias en las prácticas de higiene y condiciones inadecuadas de almacenamiento. La elevada frecuencia de *Escherichia coli* encontrada en el presente estudio constituye un claro indicador de contaminación fecal, lo que sugiere fallas en la calidad de la materia prima o contaminación cruzada durante la manipulación del producto.

Figura 4. Prueba de oxidasa (+)



La alta presencia de *Staphylococcus aureus* refuerza la hipótesis de que la manipulación humana desempeña un papel determinante en la contaminación de los quesos frescos, ya que este microorganismo se encuentra comúnmente en la piel y mucosas de los manipuladores. Su detección en más de la mitad de las muestras analizadas representa un riesgo importante para la salud pública, debido a su capacidad de producir enterotoxinas termoestables asociadas a intoxicaciones alimentarias. Por otro lado, la identificación de *Listeria monocytogenes*, aunque en menor proporción, reviste especial importancia, ya que este patógeno es capaz de crecer a temperaturas de refrigeración y provocar enfermedades graves como la listeriosis, especialmente en poblaciones vulnerables. Como ocurre en nuestra investigación, el trabajo de Espinosa-Mata et al. (2021) muestra que los quesos artesanales ecuatorianos presentan una prevalencia considerable de *Listeria monocytogenes* (14,23%). Este hallazgo complementa nuestros resultados al evidenciar que la problemática no solo se limita a coliformes, sino también a patógenos con alta relevancia clínica y capacidad para sobrevivir en condiciones de refrigeración.

Asimismo, la mayor frecuencia de aislamientos en el mercado Bellavista podría estar relacionada con condiciones de exhibición más deficientes, como mayores

temperaturas ambientales y prácticas inadecuadas de higiene, lo cual coincide con los resultados fisicoquímicos obtenidos en este estudio. En conjunto, estos hallazgos demuestran que los quesos frescos comercializados en los mercados evaluados no cumplen con condiciones adecuadas de inocuidad microbiológica, constituyendo un riesgo potencial para el consumidor y evidenciando la necesidad de fortalecer los controles sanitarios en la cadena de producción y comercialización de productos lácteos en la región.

Comparación de los resultados obtenidos con la normativa microbiológica vigente y nivel de inocuidad de los quesos frescos expendidos.

Tabla 5.

Nivel de inocuidad en quesos frescos expendidos.

Microorganismo	Resultado promedio (UFC/g)	Norma INEN	Cumplimiento
Coliformes totales	1.5×10^5	$\leq 1 \times 10^2$	No cumple
Coliformes fecales	4.6×10^4	Ausencia	No cumple
<i>Escherichia coli</i>	3.3×10^4	Ausencia	No cumple
<i>Staphylococcus aureus</i>	Presente (55%)	$\leq 10^2$	No cumple
<i>Listeria monocytogenes</i>	Presente (11.6%)	Ausencia	No cumple

Los resultados microbiológicos obtenidos fueron comparados con los límites establecidos por la normativa INEN para productos lácteos, evidenciándose que ninguno de los parámetros evaluados cumple con los criterios de inocuidad. Los coliformes totales presentaron valores promedio de 1.5×10^5 UFC/g, superando ampliamente el límite permitido ($\leq 10^2$ UFC/g), mientras que los coliformes fecales y *Escherichia coli* estuvieron presentes en todas las muestras, pese a que la normativa establece su ausencia.

Asimismo, la presencia de *Staphylococcus aureus* en el 55% de las muestras y de *Listeria monocytogenes* en el 11.6% confirma la existencia de contaminación por microorganismos patógenos, lo cual representa un incumplimiento crítico de los estándares microbiológicos. En particular, la detección de *Listeria monocytogenes* constituye un riesgo sanitario elevado debido a su capacidad de causar enfermedades graves y su resistencia a condiciones de refrigeración.

En función de los resultados obtenidos, se determinó que los quesos frescos comercializados en los mercados del cantón Guaranda presentan un nivel de inocuidad bajo, ya que exceden significativamente los límites microbiológicos establecidos y evidencian la presencia de patógenos de importancia en salud pública. La magnitud de los recuentos, especialmente en coliformes y *E. coli*, indica contaminación fecal directa, mientras que la presencia de *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* refleja deficiencias en la manipulación y condiciones de almacenamiento.

En conjunto, estos hallazgos permiten clasificar a los productos evaluados como no aptos para el consumo desde el punto de vista microbiológico, constituyendo un riesgo potencial para la salud del consumidor y evidenciando la necesidad de implementar controles sanitarios más estrictos en la cadena de producción y comercialización.

Determinación de los resultados de resistencia antimicrobiana de las bacterias aisladas en los quesos contra Penicilina (10 UI) y ampicilina (10 µg)

Tabla 6.

Actividad antimicrobiana de Penicilina G.

Bacteria	Sensible (%)	Intermedio (%)	Resistente (%)
<i>E. coli</i>	5	3	92
<i>S. aureus</i>	8	5	87
<i>L. monocytogenes</i>	91	3	6

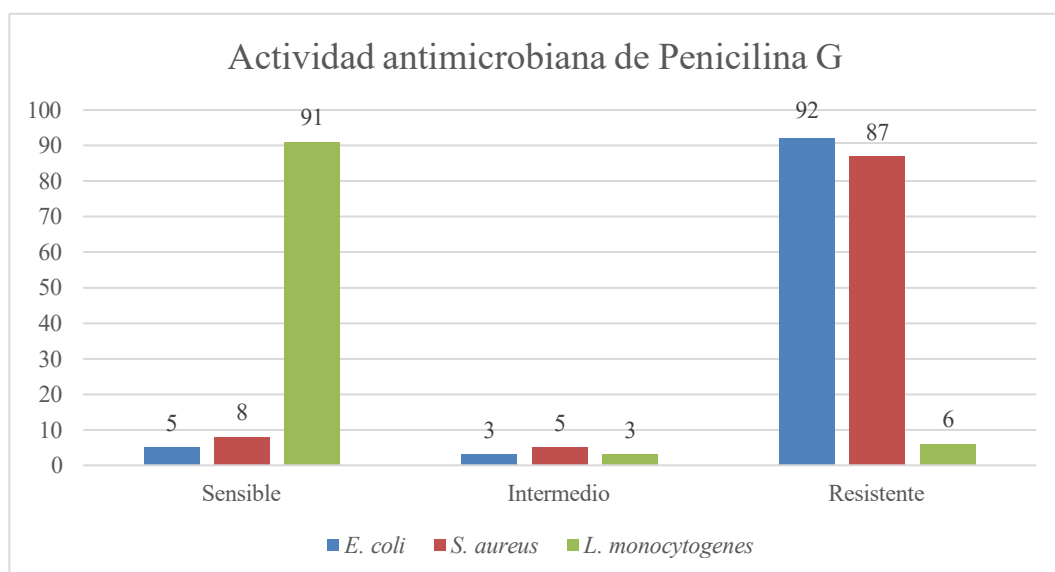
Los resultados de susceptibilidad antimicrobiana frente a penicilina G evidencian diferencias marcadas entre las bacterias evaluadas. *Escherichia coli* presentó un alto nivel de resistencia (92%), con valores mínimos de sensibilidad (5%) e intermedio (3%), lo que indica una baja eficacia de este antibiótico frente a bacterias de origen fecal. De manera similar, *Staphylococcus aureus* mostró un comportamiento altamente resistente (87%), con bajos porcentajes de sensibilidad (8%) e intermedio (5%), lo que sugiere la presencia de mecanismos de resistencia ampliamente distribuidos en este microorganismo asociado a la manipulación.

En contraste, *Listeria monocytogenes* presentó un perfil opuesto, con una alta

sensibilidad a la penicilina G (91%) y una baja proporción de resistencia (6%), lo que indica que este antibiótico aún mantiene eficacia frente a este patógeno. En conjunto, estos resultados evidencian que la penicilina G es poco efectiva frente a bacterias indicadoras de contaminación y manipulación, pero conserva actividad frente a *Listeria monocytogenes*.

El estudio realizado por Mahmoudi et al. (2025) evidencia que las cepas de *E. coli* aisladas de leche y productos lácteos presentan una resistencia significativa a penicilinas y sulfonamidas, especialmente en países en desarrollo. Este patrón coincide con los hallazgos de nuestra investigación, donde también se observó resistencia marcada frente a determinados antibióticos usados comúnmente en el ambiente pecuario.

Figura 5. Actividad antimicrobiana de Penicilina G



Estos resultados indican una baja eficacia de la penicilina G frente a las bacterias aisladas de los quesos frescos, lo que sugiere la presencia de mecanismos de resistencia ampliamente distribuidos en estos microorganismos. La alta proporción de aislados resistentes refuerza la preocupación sobre el uso de antibióticos β -lactámicos en el contexto de la producción animal y su impacto en la inocuidad de los alimentos.

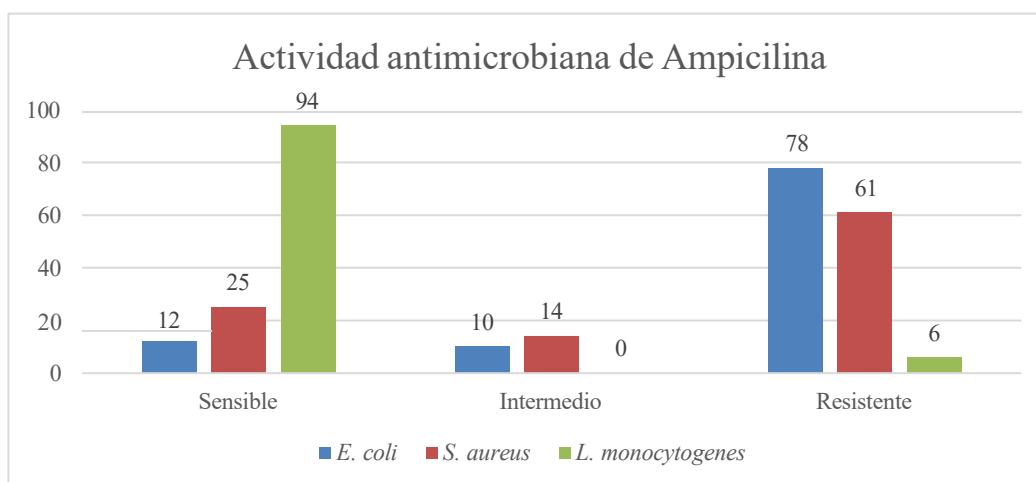
Tabla 7.

Actividad antimicrobiana de Ampicilina.

Bacteria	Sensible (%)	Intermedio (%)	Resistente (%)
<i>E. coli</i>	12	10	78
<i>S. aureus</i>	25	14	61
<i>L. monocytogenes</i>	94	0	6

En relación con la ampicilina, se observó un patrón similar de comportamiento antimicrobiano entre las bacterias evaluadas. *Escherichia coli* presentó un alto porcentaje de resistencia (78%), con una sensibilidad del 12% y un comportamiento intermedio del 10%, lo que confirma la limitada eficacia de este antibiótico frente a bacterias de origen fecal. Por su parte, *Staphylococcus aureus* mostró una resistencia del 61%, con valores de sensibilidad del 25% e intermedio del 14%, evidenciando también una eficacia reducida de este fármaco frente a bacterias asociadas a manipulación.

Figura 6. *Actividad antimicrobiana de Ampicilina*



Por otro lado, *Listeria monocytogenes* presentó una alta sensibilidad a la ampicilina (94%), sin presencia de valores intermedios y con una baja proporción de resistencia (6%), lo que confirma su susceptibilidad frente a este antibiótico. En conjunto, los resultados muestran que la ampicilina, al igual que la penicilina G, presenta baja efectividad frente a bacterias contaminantes, pero mantiene una alta eficacia frente a *Listeria monocytogenes*.

COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3 \neq \mu_4 *$$

Los resultados evidenciaron que los recuentos microbiológicos superan ampliamente los límites establecidos por la normativa vigente, registrándose altas concentraciones de coliformes totales, coliformes fecales y la presencia de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*, lo cual indica un incumplimiento de los criterios de inocuidad microbiológica.

Adicionalmente, los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana mostraron altos niveles de resistencia en bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* frente a antibióticos β -lactámicos como penicilina G y ampicilina, evidenciando la presencia de mecanismos de resistencia antimicrobiana en los aislados evaluados.

En función de estos resultados, se rechaza la hipótesis nula (H_0) y se acepta la hipótesis alternativa (H_1), concluyendo que “Los quesos frescos que se expenden en los mercados del cantón Guaranda, tienen una carga microbiológica superior a los parámetros permitidos y existe la presencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos”

CAPÍTULO V

3.3. CONCLUSIONES.

- Los parámetros fisicoquímicos evaluados en los quesos frescos comercializados en los mercados del cantón Guaranda evidenciaron que, aunque variables como el pH (6.53) y la acidez titulable (0.42%) se encuentran dentro de los rangos establecidos por la normativa INEN, estos valores no garantizan la inocuidad del producto debido a su cercanía a condiciones óptimas para el crecimiento microbiano. La humedad promedio (58.30%) cercana al límite máximo permitido y, especialmente, las temperaturas de exhibición elevadas (17.8°C en promedio), constituyen factores críticos que favorecen la proliferación bacteriana.

- La comparación de los resultados microbiológicos con la normativa INEN evidenció un incumplimiento total de los parámetros establecidos para productos lácteos, ya que ninguno de los indicadores evaluados se ajustó a los límites permisibles. La presencia generalizada de coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* confirma que los quesos frescos analizados no cumplen con condiciones mínimas de inocuidad, siendo clasificados como no aptos para el consumo humano.

- Los resultados de susceptibilidad antimicrobiana evidenciaron altos niveles de resistencia en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* frente a penicilina G (92% y 87%, respectivamente) y ampicilina (78% y 61%), lo que demuestra una baja eficacia de estos antibióticos frente a bacterias contaminantes de origen alimentario. En contraste, *Listeria monocytogenes* presentó una alta sensibilidad a ambos antimicrobianos (>90%), lo que indica que aún existen opciones terapéuticas eficaces frente a este patógeno.

3.4. RECOMENDACIONES.

- Se recomienda implementar sistemas de control de temperatura durante la comercialización de quesos frescos, garantizando el mantenimiento de la cadena de frío ($\leq 10^{\circ}\text{C}$), así como establecer programas de monitoreo periódico de parámetros fisicoquímicos, especialmente humedad y pH. Además, es fundamental capacitar a los comerciantes sobre la importancia del almacenamiento adecuado, ya que el control fisicoquímico por sí solo no asegura la inocuidad si no se acompaña de condiciones óptimas de conservación.
- Se recomienda que las autoridades sanitarias locales refuercen los mecanismos de control y regulación en los mercados del cantón Guaranda, mediante inspecciones periódicas, certificación sanitaria obligatoria y sanciones en caso de incumplimiento. Además, es fundamental promover la formalización de los sistemas de producción artesanal y la adopción de normativas nacionales para garantizar la seguridad alimentaria.
- Se recomienda promover el uso racional de antimicrobianos en la producción pecuaria, evitando su uso indiscriminado y fortaleciendo los programas de vigilancia de resistencia antimicrobiana en alimentos. Asimismo, es necesario desarrollar políticas de control que regulen la venta y uso de antibióticos en el sector agropecuario, así como fomentar investigaciones continuas que permitan monitorear la evolución de la resistencia bacteriana en la cadena alimentaria.
- Se recomienda ampliar el estudio hacia toda la cadena productiva, incluyendo la evaluación microbiológica de la leche cruda, superficies de procesamiento, utensilios y manipuladores, para determinar los puntos críticos de contaminación.
- Se sugiere incorporar un diseño experimental comparativo entre sistemas de producción artesanal y tecnificado, lo que permitiría establecer con mayor precisión el impacto de las prácticas de manejo en la inocuidad alimentaria y generar estrategias de intervención más efectivas.

BIBLIOGRAFÍA

- Addis, M., & Sisay, D. (2021). A review on major foodborne bacterial illnesses. *Journal of Tropical Medicine*, 2021, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2021/6674235>
- Albuja Landi, A., Escobar Arrieta, S., Guevara Iñiguez, L., Andueza Leal, F., Yugcha Pilamunga, P., & Arguello Hernández, P. (2018). RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADO EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES ELABORADOS EN ZONAS RURALES DE ANTIMICROBIAL RIOBAMBA-ECUADOR. *Perfiles*, 2(20), 76-81. <https://doi.org/10.47187/perf.v2i20.36>
- Aleksic, S., et al. (2024). Microbiological safety of dairy products. *Brazilian Journal of Microbiology*. <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01332-y>
- Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2020). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 12(1), 1–16. <https://doi.org/10.3390/toxins12010017>
- Aslam, B., et al. (2021). Antibiotic resistance: a global threat. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.668765>
- Aung, M. M., & Chang, Y. S. (2021). Temperature management for food safety. *Food Control*, 125, 1–8.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2020). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2019.06.001>
- Bianchi, D. M., et al. (2020). Microbiological quality of dairy products. *Food Control*, 110, 107017. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.107017>
- Bintsis, T. (2021). Foodborne pathogens and indicators in dairy products. *Foods*, 10(2), 345. <https://doi.org/10.3390/foods10020345>
- Blair, J. M. A., et al. (2021). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 19(2), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00444-5>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2020). β -lactams and β -lactamase inhibitors. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 10(8), a025247.

<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>

Carpentier, B., & Cerf, O. (2021). Persistence of *Listeria monocytogenes* in food industry environments. *International Journal of Food Microbiology*, 342, 109–123.

<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.109040>

Castellanos-Rozo, J., Pérez Pulido, R., Grande, M. et al. Potentially pathogenic bacteria isolated from Paipa cheese and its susceptibility profiles to antibiotics and biocides.

Braz J Microbiol 52, 1535–1543 (2021). [https://doi.org/10.1007/s42770-021-](https://doi.org/10.1007/s42770-021-00522-2)

[00522-2](https://doi.org/10.1007/s42770-021-00522-2)

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2020). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI guidelines.

Codex Alimentarius Commission. (2020). General principles of food hygiene. FAO/WHO.

Delgado, F. J., et al. (2020). Influence of physicochemical parameters on microbial growth.

Journal of Dairy Science, 103(5), 1–10. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17630>

Dias, J. (2022). The use of cheese from Alentejo in Portuguese gastronomy: A travel through history. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 29,

100579. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100579>

Domínguez, R., et al. (2021). Temperature effects on food safety. *Foods*, 10(4), 782.

<https://doi.org/10.3390/foods10040782>

Downes, F. P., & Ito, K. (2020). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (5th ed.). APHA.

Economou, V., & Gousia, P. (2021). Agriculture and antimicrobial resistance. *Infection and Drug Resistance*, 14, 1–13.

<https://doi.org/10.2147/IDR.S268602>

EFSA. (2022). Foodborne outbreaks dashboard. European Food Safety Authority.

<https://www.efsa.europa.eu/en/microstrategy/FBO-dashboard>

Elbediwi, M., et al. (2021). Antimicrobial resistance in foodborne pathogens. *Microorganisms*, 9(2), 1–17.

Espinosa-Mata, E., Mejía, L., Villacís, J. E., Albán, V., & Zapata, S. (2021). Detection and genotyping of *Listeria monocytogenes* in artisanal soft cheeses from Ecuador.

Revista Argentina de Microbiología. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.02.013>

- FAO. (2021). Food safety and quality guidelines. Food and Agriculture Organization.
- Farfán Sari, K. F., Romero Zhagui, G. R., & Ortiz Tejedor, J. G. (2023). Susceptibilidad antimicrobiana y enterotoxinas en *Staphylococcus aureus* aislado de queso fresco expandido en mercados municipales de la ciudad de Cuenca – Ecuador. Anatomía Digital, 6(4), 22-40. <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i4.2704>
- Feng, P., et al. (2020). Enumeration of E. coli and coliforms. FDA BAM.
- Feng, P., Weagant, S. D., & Grant, M. A. (2020). Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. Bacteriological Analytical Manual.
- Ferrari, R. G., et al. (2022). Antibiotic resistance in foodborne pathogens. Food Microbiology, 103, 1–10.
- Founou, L. L., et al. (2021). Antibiotic resistance in food chain. Frontiers in Microbiology, 12, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.655648>
- Fox, P. F., et al. (2021). Fundamentals of Cheese Science. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-60164-0>
- García-Díez, J., & Saraiva, C. (2021). Use of E. coli as hygiene indicator. Foods, 10(3), 632. <https://doi.org/10.3390/foods10030632>
- González-Montiel, L., et al. (2022). Physicochemical parameters and microbial growth. Food Microbiology, 102, 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103915>
- Grace, D. (2021). Food safety in informal markets. Food Security, 13, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s12571-021-01174-7>
- Guinee, T. P., et al. (2021). Cheese composition and structure. International Dairy Journal, 122, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105115>
- Hitchins, A. D., et al. (2020). Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*. FDA Bacteriological Analytical Manual.
- INEN. (2020). Norma técnica ecuatoriana para productos lácteos. Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- Jadhav, S., et al. (2021). Detection of *Listeria monocytogenes* in food. Food Control, 123, 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107115>

- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2021). *Modern Food Microbiology* (8th ed.). Springer.
- Kadariya, J., Smith, T. C., & Thapaliya, D. (2021). *Staphylococcus aureus* and food safety. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.720467>
- Kaur, S., et al. (2020). Antibiotics classification. *Journal of Applied Microbiology*, 129(5), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jam.14634>
- Keba, A., Rolon, M. L., Tamene, A., Dessie, K., Vipham, J., Kovac, J., & Zewdu, A. (2020). Review of the prevalence of foodborne pathogens in milk and dairy products in Ethiopia. *International Dairy Journal*, *109*, 104762. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104762>
- Kumar, P., et al. (2021). Food safety risks in dairy chain. *Journal of Food Safety*, 41(3), e12827. <https://doi.org/10.1111/jfs.12827>
- Ledenbach, L. H., & Marshall, R. T. (2020). Microbiological spoilage of dairy products.
- Mahmoudi, P., Rashidi, A., & Hama Faraj, S. I. (2025). Network meta-analysis of the prevalence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from bovine milk and dairy products: A global perspective. *Journal of Dairy Science*, 108(9), 9330–9344. <https://doi.org/10.3168/jds.2024-26197>
- Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., & Maguire, D. (2022). *Clinical veterinary microbiology*. Elsevier.
- Marshall, B. M., & Levy, S. B. (2020). Food animals and antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(2), e00048-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00048-19>
- McSweeney, P. L. H., & Fox, P. F. (2020). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Academic Press.
- Mendonça, R., Furtado, R., Coelho, A., Belo Correia, C., Suyarko, E., Borges, V., Gomes, J. P., & Pista, A. (2024). Raw milk cheeses from Beira Baixa, Portugal—A contributive study for the microbiological hygiene and safety assessment. *Brazilian Journal of Microbiology*, 55, 1759–1772. <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01332-y>
- Montel, M. C., et al. (2022). Dairy safety and microbiology. *Dairy Science & Technology*,

102, 1–18. <https://doi.org/10.1007/s13594-021-00604-8>

- Montesdeoca Tamay, J. A., Ramírez Infante, A. E., & Torres Segarra, S. M. (2024). Determinación de Coliformes spp y *Escherichia coli* en quesos frescos del mercado 9 de Octubre, Cuenca [Determination of Coliforms spp and *Escherichia coli* in fresh cheeses from the "9 de Octubre" market, Cuenca, Ecuador]. *Tesla Revista Científica*, 4(1), e294. <https://doi.org/10.55204/trc.v4i1.e294>
- Moraes, P. M., et al. (2022). E. coli in dairy products. *Journal of Dairy Science*, 105(4), 1–12. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21010>
- Moreano, N. F., et al. (2024). Calidad microbiológica de quesos frescos artesanales.
- Murray, C. J. L., et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Mwangi, W., et al. (2022). Food contamination in informal markets. *Food Microbiology*, 102, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103112>
- Nguyen, T. T., et al. (2022). Antimicrobial resistance in E. coli. *Journal of Food Protection*, 85(4), 1–9. <https://doi.org/10.4315/JFP-21-123>
- O’Neill, J. (2021). Tackling drug-resistant infections globally. *Review on Antimicrobial Resistance Report*
- Ong, L., et al. (2021). Acidification in cheese. *Journal of Dairy Research*, 88(2), 1–9. <https://doi.org/10.1017/S002202992100023X>
- Ortega-Paredes, D., de Janon, S., Villavicencio, F., Jaramillo Ruales, K., De La Torre, K., Villacís, J. E., Wagenaar, J. A., Matheu, J., Bravo-Vallejo, C., Fernández-Moreira, E., & Vinuesa-Burgos, C. (2020). Broiler farms and carcasses are an important reservoir of multi-drug resistant *Escherichia coli* in Ecuador. *Frontiers in Veterinary Science*, *7*, 547843. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.547843>
- Pal, M., et al. (2020). Microbiological quality of milk and dairy products. *Beverages and Dairy Products Journal*, 5(1), 1–8.
- Partridge, S. R., et al. (2021). Mobile genetic elements. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(2), e00118-20. <https://doi.org/10.1128/CMR.00118-20>
- Pérez-Rodríguez, F., & Mercanoglu, B. (2020). Food safety and resistance. *Food Control*,

- 110, 106–115. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106115>
- Prestinaci, F., et al. (2020). Antimicrobial resistance. *Pathogens and Global Health*, 114(5), 1–10. <https://doi.org/10.1080/20477724.2020.1765687>
- Quinn, P. J., et al. (2021). *Veterinary microbiology and microbial disease*. Wiley Blackwell.
- Reyes Tapia, H., Montes Avila, J. ., Campista, S., Hernandez, E., & Peinado, L. I. (2023). Determination of the sanitary quality of unpasteurized fresh cheeses for human consumption in Sinaloa, Mexico. *Alimentos Ciencia E Ingeniería*, 30(1), 27–37. <https://doi.org/10.31243/aci.v30i1.1973>
- Ricci, A., et al. (2023). *Listeria monocytogenes* in dairy. *Food Control*, 145, 109–118. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109118>
- Rizzo, L., et al. (2021). Antibiotic resistance in environment. *Science of the Total Environment*, 768, 144–155. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144155>
- Sichewo, P. R., et al. (2020). Microbial contamination of dairy products in open markets. *African Journal of Food Science*, 14(5), 1–8.
- Silva, C. C. G., et al. (2022). Microbial growth in dairy foods. *Foods*, 11(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/foods11060823>
- Singh, V., & Prakash, A. (2022). Intrinsic factors in foods. *Journal of Food Science*, 87(2), 1–12. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16045>
- Tang, K. L., et al. (2020). Antibiotic use in agriculture. *BMJ*, 368, m531. <https://doi.org/10.1136/bmj.m531>
- Tong, S. Y. C., et al. (2020). *Staphylococcus aureus* infections. *Nature Reviews Disease Primers*, 6, 1–22. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00211-4>
- Turner, N. A., et al. (2021). MRSA review. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(2), e00184-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00184-19>
- Vaca Córdova, S. D., Cruz Pierard, S. M., & Iñiguez Jiménez, S. O. (2021). Prevalencia de *Staphylococcus aureus* meticilino resistente en el personal de salud de un Hospital de Especialidades en Quito-Ecuador. *Revista San Gregorio*, *45*, 1-12. <https://doi.org/10.36097/rsan.vol45-1515>

Van Boeckel, T. P., et al. (2020). Antimicrobial use in animals. *Science*, 365(6459), 1–5.
<https://doi.org/10.1126/science.aaw1944>

Ventola, C. L. (2021). The antibiotic resistance crisis. *Pharmacy and Therapeutics*, 46(2), 1–15.

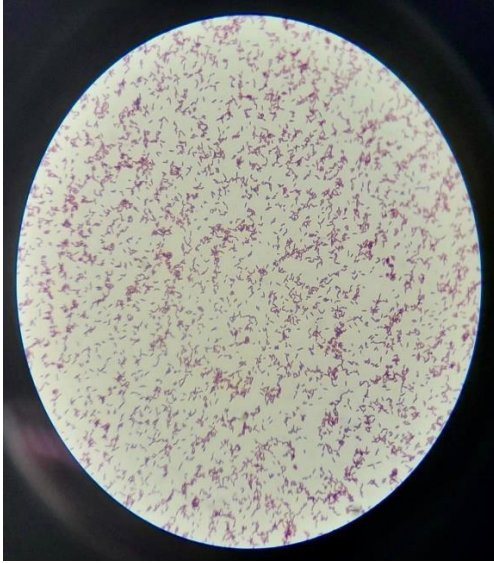
World Health Organization. (2021, October 13). Antimicrobial resistance.
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

ANEXOS

Anexo 1. Lugar de investigación



Anexo 2. Evidencia fotográfica



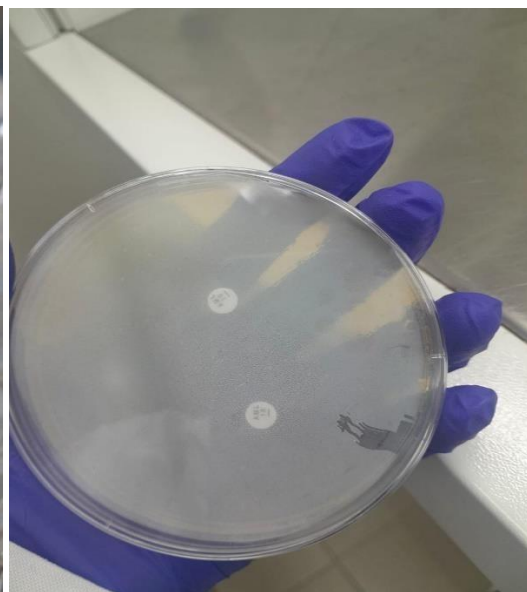
Tinción de Gram



Pruebas Fisicoquímicas del queso fresco



Muestras de queso fresco



Prueba de actividad antimicrobiana

Anexo 3. Glosario de término

Inocuidad alimentaria

Condición en la cual un alimento no representa riesgos para la salud del consumidor cuando es preparado y consumido según su uso previsto.

UFC/g (Unidades Formadoras de Colonias por gramo)

Medida utilizada para cuantificar la cantidad de microorganismos viables presentes en un alimento.

Coliformes totales

Grupo de bacterias utilizadas como indicadores de calidad higiénica en alimentos, cuya presencia sugiere contaminación ambiental o deficiencias sanitarias.

Coliformes fecales

Subgrupo de coliformes que indican contaminación de origen fecal, asociados a condiciones higiénicas deficientes.

***Escherichia coli* (E. coli)**

Bacteria indicadora de contaminación fecal, algunas cepas pueden ser patógenas y causar enfermedades en humanos.

Staphylococcus aureus

Bacteria Gram positiva asociada a la manipulación de alimentos, capaz de producir toxinas que causan intoxicación alimentaria.

Listeria monocytogenes

Bacteria patógena que puede crecer a temperaturas de refrigeración y causar listeriosis, enfermedad grave en humanos.

Resistencia antimicrobiana

Capacidad de los microorganismos para sobrevivir o multiplicarse en presencia de antibióticos que normalmente los eliminarían.

Método Kirby-Bauer

Técnica de laboratorio utilizada para determinar la sensibilidad o resistencia de bacterias frente a antibióticos mediante la medición de halos de inhibición.

pH

Parámetro fisicoquímico que mide la acidez o alcalinidad de un alimento, influyendo directamente en el crecimiento microbiano.