



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA**

CARRERA DE ALIMENTOS

Análisis de la contaminación microbiológica por patógenos alimentarios en quesos frescos sin marca en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato.

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología

Autor: María Belén Paucar Gualotuña

Tutor: Ing. Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

Ambato – Ecuador

Septiembre - 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

CERTIFICA:

Que el presente Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación, bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 13 de Julio del 2023

Ing. Mg. Manoella Alejandra Sánchez Garnica

C.I. 0604079871

TUTORA

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, María Belén Paucar Gualotuña, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográfica



María Belén Paucar Gualotuña

C.I. 1722078761

AUTORA

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y proceso de investigación según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos como autor.



María Belén Paucar Gualotuña

C.I. 1722078761

AUTORA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Por constancia firma:

Presidente de Tribunal

Ing. Mg. Israel Manuel Guanoquiza Rivera

0502966377

Ing. M.Sc. Liliana Patricia Acurio Arcos

18040670808

Ambato, 22 de Agosto del 2023

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación se lo dedico a Dios y a mis queridos padres Alfredo Paucar, quien ha sido mi gran inspiración y mi ejemplo a seguir, me enseñó a que los sueños se pueden cumplir y a trabajar por ello, a mi amada madre Rosa Gualotuña, mi otra inspiración y la mujer más importante en mi vida, nada de esto sería posible sin su amor y apoyo incondicional.

A mis abuelitos José Nicanor y María Delia, quienes son las personas más importantes en mí vida.

A mis hermanos mis personas favoritas Mishel y Josué, quienes siempre han estado a mi lado, son el pilar de mi vida, también a mi querido sobrino Alejandro, has sido el motivo de mi esfuerzo y dedicación.

Con amor

María Belén Paucar

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por permitirme culminar esta etapa de mi vida y por saber guiar cada uno de mis pasos. De todo corazón agradezco a mi madre y padre, han sido un pilar fundamental en mi vida y mi gran inspiración, gracias por confiar en mí y por apoyarme a cumplir cada uno de mis sueños, las palabras no pueden describir lo agradecida que me encuentro hoy en día, esto solo es el inicio de una gran historia. Los amo infinitamente. A mis abuelitos José Nicanor y María Delia, son las personas que me apoyaron incondicionalmente durante mi vida académica, siempre estaré eternamente agradecida.

A mi hermana Mishel, gracias por enseñarme a ser fuerte y valiente, a mi hermano Josué David, quien con sus aspiraciones y sueños me han incentivado a esforzarme cada día para ser un gran ejemplo a seguir. A mi pequeño sobrino Alejandro, gracias por ser la motivación y mi alegría de todos los días.

A mi tutora, Ing. Mg. Alejandra Sánchez, gracias por el apoyo, paciencia, confianza y por nunca dejarme sola durante este proceso, una de las mejores profesionales que he conocido. La mejor tutora sin duda alguna.

A la Universidad técnica de Ambato y en especial a la prestigiosa Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, por abrirme las puertas y haberme formando por 5 años como profesional

A todos los docentes que han impartido su conocimiento y en especial a las Técnicas de Laboratorio Ing. Valeria Flores y Ing. Patricia Dávalos por su paciencia y apoyo durante el desarrollo experimental de la tesis.

A mis amigos Dennys, Abraham y Teffa, gracias por todos los momentos bonitos compartidos en la facultad son las mejores personas que eh conocido y son muy especiales para mí. De igual manera a Darío por estar durante toda esta etapa y tenerme paciencia. Siempre contarán conmigo los quiero mucho.

El final de un bonito principio. ¡Les agradezco por todo ¡

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
RESUMEN EJECUTIVO	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. Antecedentes investigativos	1
1.1.1. Inocuidad Alimentaria	1
1.1.2. Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS)	1
1.1.3. Patógenos alimentarios	2
1.1.4. <i>Escherichia coli</i>	2
1.1.4.1. Serotipos	3
1.1.4.2. Factores de riesgo	4
1.1.4.3. <i>Escherichia coli</i> en la industria alimentaria.....	5
1.1.4.4. Medidas de prevención y control.....	6
1.1.5. <i>Salmonella</i> spp.	6
1.1.5.1. Serotipos	7

1.1.5.2. Factores de riesgo	8
1.1.5.3. <i>Salmonella</i> spp. en la industria alimentaria	8
1.1.5.4. Medidas de prevención y control.....	9
1.1.6. Queso Fresco	10
1.1.7. Proceso de elaboración del queso fresco.....	11
1.1.8. Indicadores de calidad del queso fresco	13
1.1.9. Pruebas bioquímicas	14
1.2. Objetivos	15
1.2.1. Objetivos General.....	15
1.2.2. Objetivos Específicos	15
CAPÍTULO II	16
MATERIALES Y MÉTODOS	16
2.1. Materiales.....	16
2.1.1. Materia prima	16
2.1.2. Material de laboratorio	16
2.1.3. Equipos	17
2.1.4. Reactivos	17
2.2. Métodos.....	17
2.2.1. Establecimiento del área de muestreo	17
2.2.2. Identificación de los patógenos alimentarios <i>Escherichia coli</i> (AOAC 991.14) y <i>Salmonella</i> spp. (NTE INEN 1529-15)	18
2.2.2.1. <i>Escherichia coli</i>	18
2.2.2.2. <i>Salmonella</i> spp.....	19
2.2.2.3. Identificación bioquímica	20
2.2.3. Evaluación de la carga microbiana de <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella</i> spp. de los quesos muestreados	21
CAPÍTULO III.....	22

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
3.1. Sitios de muestreo en los mercados urbanos del cantón Ambato.....	22
3.2. Contaminación microbiológica por patógenos alimentarios	24
3.2.1. Presencia de <i>Escherichia coli</i> en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato.....	24
3.2.2. Presencia de <i>Salmonella</i> spp. en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato.....	31
CAPÍTULO IV	38
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	38
4.1. Conclusiones	38
4.2. Recomendaciones.....	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXOS	50

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones de crecimiento de <i>Escherichia coli</i>	3
Tabla 2. Serotipos de <i>Escherichia coli</i>	3
Tabla 3. Condiciones de crecimiento de la <i>Salmonella</i> spp.....	7
Tabla 4. Serotipos principales de la <i>Salmonella</i> spp.....	7
Tabla 5. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados.	13
Tabla 6. Descripción de las pruebas bioquímicas para identificación de <i>Salmonella</i> spp.	14
Tabla 7. Codificación de las muestras seleccionadas.....	18
Tabla 8. Pruebas bioquímicas de <i>Salmonella</i> spp.	20
Tabla 9. Mercados elegidos para la toma de las muestras de queso fresco sin marca.	22
Tabla 10. Resultados del recuento de <i>Escherichia coli</i> en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato. MNPC: muy numeroso para contar.	24
Tabla 11. Resultados de la presencia o ausencia de <i>Salmonella</i> spp. en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato.	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso fresco.	11
Figura 2. Porcentaje de cumplimiento de las condiciones de almacenamiento en los 8 mercados de la zona urbana del cantón Ambato.	23
Figura 3. Porcentaje de muestras de queso fresco positivas y negativas de <i>Escherichia coli</i> en los mercados urbanos del cantón Ambato al Día 0.	27
Figura 4. Porcentaje de muestras de queso fresco positivas y negativas de <i>Escherichia coli</i> en los mercados urbanos del cantón Ambato al Día 7.	28
Figura 5. Porcentaje de muestras de queso fresco positivas y negativas de <i>Escherichia coli</i> en los mercados urbanos del cantón Ambato al Día 15.	29
Figura 6. Formación de colonias de <i>Escherichia coli</i> (color azul) en el Mercado Mayorista de Ambato. (A): muestra a los 0 días, (B): muestra a los 7 días, (C): muestra a los 15 días.	31
Figura 7. Porcentaje de muestras de queso fresco que cumplen con la normativa NTE INEN 1528.	32
Figura 8. Ausencia de colonias de <i>salmonella</i> sembrada en medios XLD a partir de muestras de queso fresco sin marca recolectadas en el Mercado Mayorista de Ambato. (A): muestra a los 0 días, (B): muestra a los 7 días, (C) muestra a los 15 días.	34
Figura 9. Colonias de <i>Salmonella cholerasuis</i> sembrada en medios XLD a partir del hisopado de hígado y brazo de un ratón disectado luego de morir de infección por una cepa de <i>S. Enteritis</i>	35

RESUMEN EJECUTIVO

Los patógenos alimentarios *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* han sido vinculados a enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA). Los focos de contaminación son principalmente los manipuladores de alimentos en las distintas etapas, en el proceso de producción, transporte del alimento, almacenamiento en el punto de venta, fallas en la cadena de frío y la mala higiene.

Para esta investigación se analizó 24 quesos frescos sin marca en los 8 mercados de la zona urbana del cantón Ambato. En tres puntos de tiempo, día 0, día 7 y día 15. Los quesos fueron almacenados en refrigeración durante 7 y 15 días. Para el análisis de la *Salmonella* spp., se utilizó la metodología NTE INEN 1529-15, este método consiste en la aplicación de las siguientes etapas: Pre-enriquecimiento, Enriquecimiento selectivo, la Siembra en placas e Identificación bioquímica. Por otra parte, para la identificación de *Escherichia coli* se empleó la metodología AOAC 991.14 que consiste en la siembra por diluciones en placas petrifilm EC.

Concluyendo que el 25 por ciento de los mercados cumplen con condiciones óptimas de almacenamiento. Por otra parte, ninguna de las muestras analizadas cumplió con el límite máximo permisible de *Escherichia coli*. Sin embargo, aquellas muestras que disponían de un correcto almacenamiento no presentaron *E. coli* el día 0. Al día 15, el 50 por ciento de los mercados tuvieron *Escherichia coli*. Por otra parte, el análisis de *Salmonella* fue negativo en las 24 muestras, cumpliendo con lo establecido por la normativa NTE INEN 1528:2012.

Palabras clave: queso, inocuidad alimentaria, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, patógenos alimentarios, productos lácteos.

ABSTRACT

The food pathogens *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* have been linked to foodborne diseases (FBD). The sources of contamination are mainly food handlers at different stages in the production process, food transportation, storage at the point of sale, cold chain failures and poor hygiene.

For this research, 24 unbranded fresh cheeses were analyzed in the 8 markets of the urban area of Ambato. At three points in time, day 0, day 7 and day 15. The cheeses were stored refrigerated for 7 and 15 days. For the analysis of *Salmonella* spp., the methodology NTE INEN 1529-15 was used, this method consists of the application of the following stages: Pre-enrichment, selective enrichment, plate seeding and biochemical identification. On the other hand, for the identification of *Escherichia coli*, the AOAC 991.14 methodology was used, which consists of sowing by dilutions in petrifilm EC plates.

The conclusion was that 25 percent of the markets met optimal storage conditions. On the other hand, none of the samples analyzed complied with the maximum permissible limit for *Escherichia coli*. However, those samples that had proper storage had no *E. coli* on day 0. On day 15, 50 percent of the markets had *Escherichia coli*. On the other hand, the *Salmonella* spp. analysis was negative in all 24 samples, complying with NTE INEN 1528:2012.

Key words: cheese, food safety, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, food pathogens, dairy products.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Inocuidad Alimentaria

La inocuidad es definida como, la garantía de que los alimentos no causaran ningún daño al consumidor cuando se consuman y/o se preparen de acuerdo con el uso que se destinen (**Díaz et al., 2015**). Los peligros físicos, químicos y biológicos son las tres categorías principales de peligros para la inocuidad de los alimentos (**Tapia & Arispe, 2007**). Los peligros físicos se refieren a objetos extraños como vidrio, astillas, metal u otros materiales que pueden adherirse a los alimentos durante el proceso de producción, envasado o manipulación; los peligros químicos hacen referencia a toxinas naturales o contaminantes químicos que pueden estar presentes en los alimentos; por otra parte, los peligros biológicos incluyen microorganismos tales como mohos, virus, levaduras y parásitos que pueden desarrollarse sobre los alimentos y causar enfermedades cuando se consumen (**Jeannine, 2013**).

1.1.2. Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS)

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS) son un síndrome originado por la ingestión de alimentos y/o agua contaminados por bacterias, virus o sustancias químicas que causan enfermedades gastrointestinales y síntomas como vómito, náuseas, diarrea, fiebre y dolor abdominal y en casos extremos, pueden causar la muerte (**Fernández et al., 2021; Varela et al., 2016**). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las ETAS se originan por la contaminación ambiental, incluida la contaminación del agua, el suelo o el aire en los diferentes puntos de la cadena de producción, transporte y consumo de alimentos (**World Health Organization, n.d.**).

1.1.3. Patógenos alimentarios

Los patógenos alimentarios son agentes biológicos principalmente bacterias, virus o parásitos que se encuentran presentes en los alimentos y son considerados la principal causa de las intoxicaciones alimentarias (**Safavieh et al., 2015**). Varias bacterias patógenas tienen la capacidad de formar esporas, que son estructuras que permiten que las bacterias resistan a condiciones extremas, por ejemplo (*Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*). Los virus entéricos como el norovirus, hepatitis A, rotavirus entre otros; pueden causar infecciones gastrointestinales que se transmiten a través de la ruta fecal-oral, es decir pueden transferirse de las heces a los alimentos o agua (**Warriner, 2005**).

Los animales como vacas, cerdos y peces comúnmente pueden infectarse con parásitos como la giardia duodenalis, cryptosporidium, trichinella, helmintos, entre otros; que luego pueden transmitirse a los seres humanos a través del consumo de los alimentos contaminados (**Marcogliese, 2002**). Gran parte de los patógenos alimentarios son mesófilos, pero ciertos patógenos son capaces de sobrevivir en condiciones de refrigeración como la *Listeria monocytogenes* y *Yersinia enterocolitica* (**Bintsis, 2017**).

1.1.4. *Escherichia coli*

Escherichia coli es un bacilo anaerobio facultativo gramnegativo perteneciente a la familia Enterobacteriaceae (**Estrada-Garcia & Tarr, 2023a**). Las células de *Escherichia coli* suelen tener de 1.1 a 1.5 μm de ancho, de 2 a 6 μm de largo y se presentan como varillas rectas simples (**Desmarchelier & Fegan, 2002; Safavieh et al., 2015**). Estas pueden ser móviles o inmóviles y son parte del intestino inferior de los animales de sangre caliente (**Estrada-Garcia & Tarr, 2023b**). La *Escherichia coli* se serotipa en tres tipos de antígenos flagelares (H) somáticos (O) y capsulares (K) identificándose más de 700 serotipos basándose en las combinaciones O y H. Las cepas de *Escherichia coli* se dividen en varios grupos filogenéticos: A, B1, B2 y D (**Jang et al., 2017b**).

Tabla 1. Condiciones de crecimiento de *Escherichia coli*.

	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura (°C)	7 – 8	36 – 40	46
pH	4,4	6,5 – 7,5	10
Actividad de agua (aw)	0,955	0,995	-

Fuente: Adaptado de (Jang et al., 2017b; Presser et al., 1998; Wanigasekera, 2017).

1.1.4.1. Serotipos

La *Escherichia coli* se divide diferentes serotipos diarreogénicos, cada uno con distintos factores de patogenicidad y virulencias (Vidal et al., 2007). Los seis serotipos más comunes se describen en la Tabla 2.

Tabla 2. Serotipos de *Escherichia coli*

Microorganismo	Sitio de infección	Enfermedad asociada	Ruta de transmisión
<i>Escherichia coli</i> enteropatógena (ECEP)	Intestino delgado	Diarrea infantil	Agua, fórmula infantil
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica (ECET)	Intestino delgado	Diarrea del viajero, diarrea infantil crónica (en países en desarrollo)	Alimentos (productos crudos, vendedores ambulantes) y agua
<i>Escherichia coli</i>	Intestino grueso	Colitis hemorrágica (HC), síndrome	Alimentos (productos de carne de res), de

<i>enterohemorrágica</i> (ECEH)		urémico hemolítico (SUH)	persona a persona, agua, animales
<i>Escherichia coli</i> enteroagregativa (EAEC)	Intestino	Diarrea con sangre o acuosa	Alimentos (productos crudos)
<i>Escherichia coli</i> enteroinvasiva (ECEI)	Intestino grueso	Disentería	Agua (poco frecuente), de persona a persona
<i>Escherichia coli</i> de adherencia difusa (DAEC)	Intestino	Diarrea acuosa con o sin sangre en las heces, aguda y crónica	Comida, agua, de persona a persona

Fuente: Tomado de (**Ekici & Dümen, 2019**).

Cada uno de los serotipos descritos pueden causar varios tipos de infecciones o diarreas en animales y seres humanos. Es relevante tener presente que no todos los tipos de *Escherichia coli* son patógenos, algunos habitan en el tracto intestinal y son necesarios para mantener estable el sistema digestivo (**Vidal et al., 2007**).

1.1.4.2. Factores de riesgo

Existen varios factores de riesgo por *Escherichia coli* entre ellos:

- **Edad:** Los niños y adultos son los más propensos a padecer enfermedades como el síndrome urémico hemolítico (HUS) por *Escherichia coli* debido a los patotipos EHEC/STEC.
- **Sistema inmunológico debilitado:** Las personas con un sistema inmunológico debilitado son más vulnerables a padecer infecciones por *Escherichia coli*.

- **Consumo de alimentos o agua contaminados:** El consumo de carne poco cocida, leche o jugo no pasteurizada y los quesos blandos elaborados con leche cruda puede aumentar el riesgo de contraer *Escherichia coli*.
- **Disminución de los niveles de ácido estomacal:** Personas con enfermedades como cáncer, sida o con un sistema inmunitario debilitado son más propensas a infecciones por digestión de *Escherichia coli*.

(Estrada-Garcia & Tarr, 2023b; Servin, 2014).

1.1.4.3. *Escherichia coli* en la industria alimentaria

Las infecciones por *Escherichia coli* en la industria alimentaria se puede asociar a malas prácticas de saneamiento e higiene por lo que, durante la cadena alimentaria la trazabilidad es muy importante para garantizar la seguridad del consumidor y a su vez proteger a los alimentos de contaminaciones físicas, químicas y biológicas (Ekici & Dümen, 2019).

La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* son inofensivas, pero algunas pueden causar una intoxicación alimentaria grave. La *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) es una bacteria que puede causar enfermedades graves transmitidas por los alimentos. Las principales fuentes de brotes de STEC son los productos cárnicos picados crudos o poco cocidos, la leche cruda y la contaminación fecal de las verduras (*Escherichia Coli (E.Coli) / FDA, n.d.*). La *Escherichia coli* se puede propagar en los alimentos, incluso en pequeñas cantidades, lo que puede causar infecciones, intoxicaciones alimentarias e incluso la muerte. Por lo tanto, es muy importante que las industrias productoras de alimentos cumplan con los principios de métodos de seguridad como HACCP y BPM en términos de salud pública para la prevención de enfermedades y brotes (Ekici & Dümen, 2019).

1.1.4.4. Medidas de prevención y control

Para minimizar el riesgo de contaminación por *Escherichia coli*, se debe realizar muchos esfuerzos, incluida la mejora de los métodos de diagnóstico, especialmente en los establecimientos de alimentos (**Hariri, 2022**).

Las medidas de prevención incluyen la protección de los alimentos de la contaminación directa o indirecta, la aplicación de buenas prácticas de higiene personal, la conservación de los alimentos procesados a temperaturas apropiadas, el control del empaque y el almacenamiento adecuado, la cocción a temperaturas óptimas y el enfriamiento adecuado (**Ekici & Dümen, 2019**).

En general, las estrategias para la prevención y el control de la propagación de *Escherichia coli* deben incluir acceso agua potable, buenas prácticas de manipulación para reducir el riesgo de contaminación de los alimentos, medidas sanitarias, educación pública y vacunación. El acceso al agua potable es clave para la prevención de las infecciones por *Escherichia coli*. La tecnología de irradiación de alimentos se puede utilizar para reducir significativamente la carga bacteriana en productos de alto riesgo. Sin embargo, la irradiación de alimentos no sustituye las prácticas de higiene y salud o las buenas prácticas de fabricación de alimentos o agrícolas (**Allocati et al., 2013**).

1.1.5. *Salmonella* spp.

Las especies de *Salmonella* spp. son bacilos anaerobios facultativos, flagelados, gramnegativos clasificados como miembros de la familia Enterobacteriaceae (**Giannella, 1996**). Tienen forma de bastoncillo y generalmente miden de 2 a 5 µm de largo por 0,5 a 1,5 µm de ancho y son móviles por flagelos peritricos. Las salmonelas forman un grupo complejo de bacterias que consta de dos especies y seis subespecies e incluyen más de 2600 serovares (**Andino & Hanning, 2015**). Generalmente son capaces de reducir el nitrato a nitrito, además pueden crecer en citrato como única fuente de carbono, producen ácido y gas a partir

de glucosa, son capaces de producir sulfuro de hidrógeno en azúcar triple de hierro y descarboxilar lisina y ornitina (Ethelberg et al., 2014).

Tabla 3. Condiciones de crecimiento de la *Salmonella* spp.

	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura (°C)	5,2	35 – 43	46,2
pH	3,8	7 – 7,5	9,5
Actividad de agua (aw)	0,93	0,99	>0,99

Fuente: Adaptado de (Wanigasekera, 2017).

1.1.5.1. Serotipos

Las especies de *Salmonella* spp. se clasifican en serovariedades (serotipos) en base a lipopolisacáridos (O), proteínas flagelares (H) y en ocasiones antígenos capsulares (Vi); dentro de una serovariedad, puede haber distintas cepas que difieren en el grado de virulencia (Sarrionandia et al., 2005).

Tabla 4. Serotipos principales de la *Salmonella* spp.

Serotipo	Sitio de infección	Enfermedad asociada	Ruta de transmisión
<i>Typhimurium</i>	Intestinal	Gastroenteritis (Salmonelosis)	Alimentos (carne, aves, huevos y productos agrícolas) agua contaminada con heces de humanos o animales.
<i>Enteritidis</i>	Intestinal	Gastroenteritis (Salmonelosis)	Alimentos y agua contaminada con heces de humanos o animales.

<i>Paratyphi</i>	Sistemática	Fiebre Paratifoidea	Alimentos y agua contaminada con heces de humanos.
<i>Typhi</i>	Sistemática	Fiebre Tifoidea	Alimentos y agua contaminada con heces de humanos.

Fuente: Adaptado de (Murgia et al., 2020; Smith et al., 2020).

1.1.5.2. Factores de riesgo

Existen varios factores de riesgo por *Salmonella* entre ellos:

- **Edad:** Los niños de 5 años o menos y adultos mayores de 65 años tienen una alta tasa de morbilidad y mortalidad por *Salmonella* no tifoidea causando alrededor de 95,1 millones de casos.
- **Clima:** Las infecciones por *Salmonella* son más comunes en climas cálidos durante los meses (junio, julio y agosto).
- **Medicamentos:** Algunos medicamentos para disminuir el ácido estomacal pueden aumentar el riesgo de infección.
- **Sistema inmunológico debilitado:** Pacientes con enfermedades ya diagnosticadas pueden llegar a desarrollar diarrea prolongada, deshidratación y otras complicaciones.
- **Contactos con animales:** El contacto con animales de granja y mascotas especialmente aves de corral.

(Ajmera & Shabbir, 2022; Bavishi & DuPont, 2023; Crum, 2008; Woh et al., 2021).

1.1.5.3. *Salmonella* spp. en la industria alimentaria

En la industria alimentaria la presencia de la *Salmonella* spp. puede representar un grave peligro para la salud pública ya que puede estar presente en varios tipos de

alimentos, como pollo, cerdo, carnes rojas y huevos entre otros. Se estima que de 2 a 4 millones de casos de salmonelosis humana ocurren anualmente en los Estados Unidos, y la incidencia de la enfermedad parece estar aumentando en otras naciones industrializadas (**Jones, 2011a**). Provocando enfermedades gastrointestinales y potencialmente mortales para los consumidores (**Ehuwa et al., 2021**).

Entre los años 2007 y 2016 este patógeno fue responsable de 13 brotes que dieron como resultado 636 enfermedades que requirieron hospitalización en la UE, nueve de estos brotes se debieron al consumo de alimentos contaminados. Las salmonelas patógenas ingeridas en los alimentos sobreviven al paso a través de la barrera de ácido gástrico e invaden la mucosa del intestino delgado y grueso produciendo toxinas (**Giannella, 1996**).

1.1.5.4. Medidas de prevención y control

Las medidas de prevención y control de *Salmonella* spp. incluyen varias prácticas básicas de higiene alimentaria, los cuales deben aplicarse en todas las etapas de la cadena alimentaria: desde la producción primaria, el procesamiento, la distribución, las ventas y el consumo (**World Health Organization, 2018**).

En las plantas industriales de elaboración de productos alimenticios se deben desarrollar códigos de Buenas Prácticas de Fabricación, que eliminen o minimicen la contaminación del producto final y el crecimiento posterior del patógeno. Los controles de las materias primas son importantes para minimizar las cargas microbianas. Considerar formulaciones adecuadas que ajusten el pH y la aw (actividad del agua) a través de tratamientos o de adición de ingredientes para que no se favorezca el crecimiento de la bacteria (**Jones, 2011b**).

En Ecuador el Ministerio de Salud Pública (MPS) y la secretaria nacional de Vigilancia, Prevención y Control de la Salud Pública, son los encargados de la gestión interna de la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica y la Dirección Nacional de Vigilancia y Control Sanitario, estos organismos gubernamentales junto con el sector privado trabajan para mejorar el sistema de atención sanitario del Ecuador (**Delgado Bernal et al., 2021**).

1.1.6. Queso Fresco

Es el queso no madurado, ni escaldado, moldeado, de textura relativamente firme, levemente granular, preparado con leche entera, semidescremada, coagulada con enzimas y/o ácidos orgánicos, generalmente sin cultivos lácticos. También se designa como queso blanco (**NTE INEN 1528:2012, 2012a**).

1.1.7. Proceso de elaboración del queso fresco

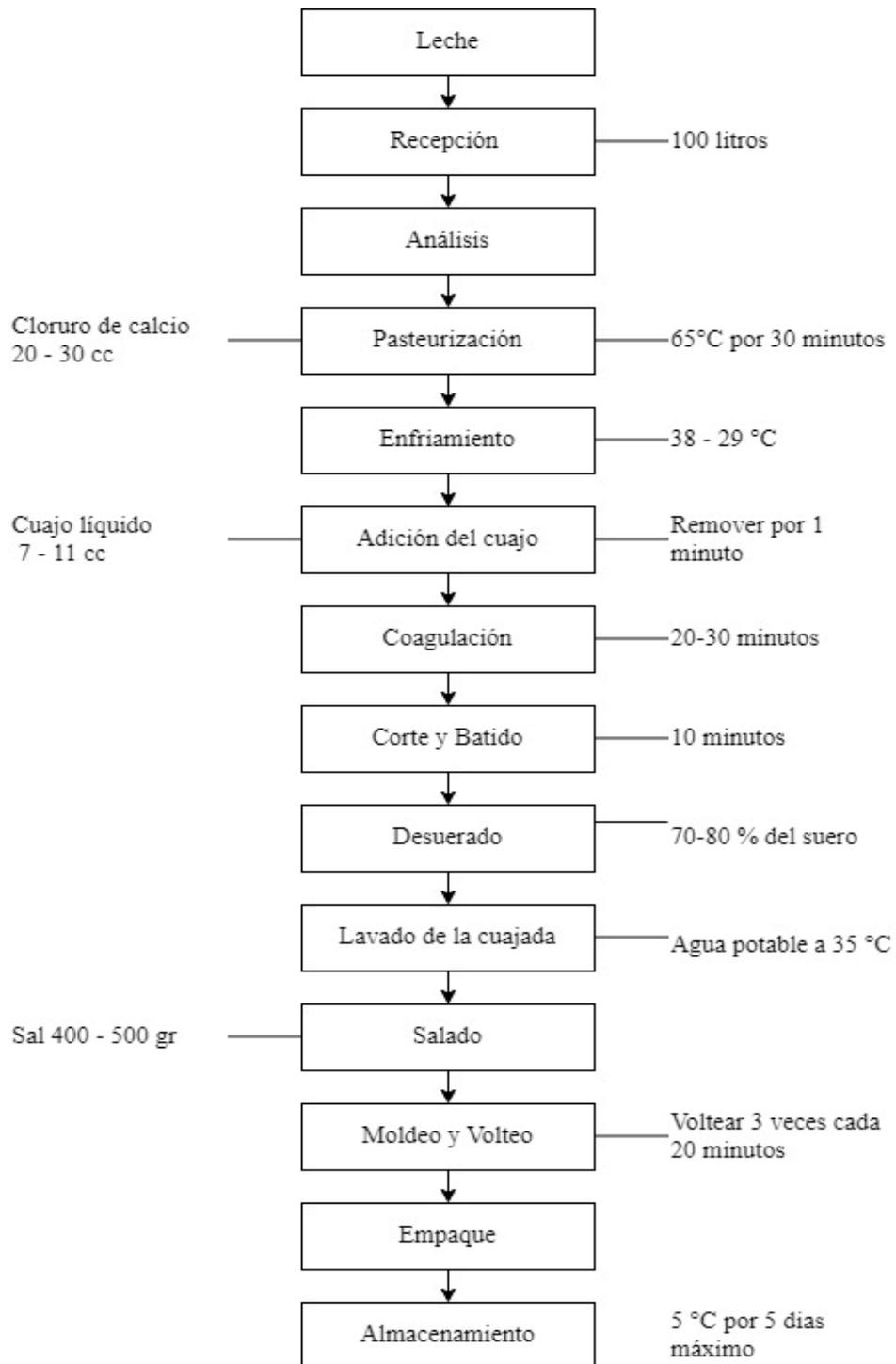


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de elaboración del queso fresco.

Fuente: Tomado de (IICA, n.d.)

1. **Recepción:** La leche debe filtrarse a través de una tela fina, para eliminar cuerpos extraños.
2. **Análisis:** Deben hacerse pruebas de acidez, antibióticos, porcentaje de grasa y análisis organoléptico (sabor, olor, color). La acidez de la leche debe estar entre 16 y 18 °D.
3. **Pasteurización:** Consiste en calentar la leche a una temperatura de 65 °C por 30 minutos, para eliminar los microorganismos patógenos. En esta etapa se debe agregar el cloruro de calcio en una proporción del 0,02 – 0,03% en relación con la leche que entró a proceso.
4. **Enfriamiento:** La leche pasteurizada se enfría a una temperatura de 37-39 °C.
5. **Adición del cuajo:** Se agrega entre 7 y 10 cc de cuajo líquido por cada 100 litros de leche o bien 2 pastillas a una temperatura de 38 - 39 °C.
6. **Corte:** La masa cuajada se corta, con una lira o con cuchillos, en cuadros pequeños para dejar salir la mayor cantidad de suero posible en aproximadamente a los 10 minutos.
7. **Desuerado:** Consiste en separar el suero dejándolo escurrir a través de un colador, posteriormente se debe separar entre el 70% y el 80% del suero.
8. **Lavado de la cuajada:** La cuajada se lava para eliminar residuos de suero y bloquear el desarrollo de microorganismos dañinos al queso a una temperatura de 35 °C.
9. **Salado:** Se adicionan de 400 a 500 g de sal fina por cada 100 litros de leche y se mezcla.
10. **Moldeo:** El queso se debe voltear por tres veces a intervalos de 15 minutos.
11. **Pesado:** Se hace para llevar registros de rendimientos, es decir los kilogramos obtenidos por litro de leche.
12. **Empaque:** El empaque se hace con material que no permita el paso de humedad.
13. **Almacenado:** Se debe almacenar en refrigeración no más de 5 -7 días.

(IICA, n.d.)

1.1.8. Indicadores de calidad del queso fresco

La calidad del queso se basa principalmente en la apariencia, sabor, textura, funcionalidad, vida útil y la calidad microbiológica (Barukčić et al., 2020; Guinee, 2022). El nivel del pH es un factor crucial en la determinación de la textura de los quesos frescos de coagulación ácida.

Los quesos frescos no madurados de acuerdo con la normativa ecuatoriana deben cumplir con ciertos requisitos microbiológicos detallados en la Tabla 5, para ser considerados inocuos.

Tabla 5. Requisitos microbiológicos para quesos frescos no madurados.

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

Donde:

n= Número de muestras a examinar.

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

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

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

Fuente: Tomado de (NTE INEN 1528:2012, 2012b).

1.1.9. Pruebas bioquímicas

La *Salmonella spp.* puede identificarse mediante la combinación de pruebas bioquímicas. Algunas de estas pruebas incluyen Simmons Citrato Agar, LIA Agar, TSI Agar, Urea Agar, SIM Caldo y MR-VP Caldo, las cuales se describen en la Tabla 6.

Tabla 6. Descripción de las pruebas bioquímicas para identificación de *Salmonella spp.*

Pruebas bioquímicas	Descripción general
Simmons Citrato Agar	Diferenciación de enterobacterias, utiliza citrato como única fuente de carbono y energía
LIA Agar	Diferenciación de microorganismos, especialmente <i>Salmonella spp.</i> , decarboxilación y desaminación de la lisina y producción de H ₂ S.
TSI Agar	Diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de hidratos de carbono, glucosa, lactosa, sacarosa y producción de H ₂ S.
Urea Agar	Diferenciación de microorganismos en base a la actividad ureásica, bacterias que hidrolizan urea como <i>Proteus spp.</i> , otras enterobacterias y estafilococos.
SIM Caldo	Diferenciación de enterobacterias, en base a su movilidad, actividad de ornitina decarboxilasa y producción de indol y de sulfuro de hidrógeno.
MR-VP Caldo	Identificación de enterobacterias, mediante el ensayo de Rojo de Metilo.

Fuente: Tomado de (Nova Laboratorios, n.d.).

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivos General

Analizar la contaminación microbiológica por patógenos alimentarios en quesos frescos sin marca en los mercados de las zonas urbanas del cantón Ambato.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Establecer el área de muestreo en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato con base a la normativa NTE INEN-ISO 707 para leche y productos lácteos.
- Identificar los patógenos alimentarios *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. de las muestras recolectadas con base en el método oficial AOAC 991.14 y NTE INEN 1529-15, respectivamente.
- Evaluar los cambios en la carga microbiana de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. posterior a la recolección de las muestras.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

La recolección de los quesos se realizó en los 8 mercados de la zona urbana del cantón Ambato, posteriormente la parte experimental del presente proyecto se lo realizó en los laboratorios académicos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

2.1. Materiales

2.1.1. Materia prima

- Queso fresco sin marca

2.1.2. Material de laboratorio

- Espátula estéril
- Cuchillo estéril
- Probeta 100 ml
- Vasos de precipitación
- Tubos de ensayo con tapas
- Cajas Petri estériles de plástico
- Asa de cultivo Drigalsky
- Frasco de Laboratorio Autoclavable 100 ml
- Frasco de Laboratorio Autoclavable 250 ml

2.1.3. Equipos

- Incubadora
- Balanza de precisión
- Autoclave
- Refrigeradora
- Contador de colonias
- Mechero de alcohol
- Cámara de siembra de flujo laminar
- Micropipeta 100-1000 ul

2.1.4. Reactivos

- Agua pentonada bufferada
- Agar *XLD*
- Caldo Rappaport
- Placas petrifilm para *Escherichia coli*
- Pruebas bioquímicas

2.2. Métodos

2.2.1. Establecimiento del área de muestreo

Para la toma de muestras de queso fresco sin marca se utilizó la guía de observación que se detalla en el Anexo 1, donde se consideró datos de condiciones de almacenamiento, presentación, lugar de procedencia y las condiciones organolépticas visibles. Se empleó la normativa NTE INEN-ISO 707 para leche y productos lácteos. La toma de muestras del queso fresco se realizó en un local comercial por mercado, mediante técnicas asépticas. Posteriormente, se colocó en recipientes cerrados y se transportó en un recipiente hermético con bolsas de enfriamiento de gel para mantener la temperatura entre 1 a 5 °C (NTE INEN-ISO 707, 2008). Por mercado se recolectó

tres muestras de quesos frescos, de los cuales una muestra fue analizada el mismo día y el resto almacenados en refrigeración para el posterior análisis a los 7 y 15 días, con el objetivo de evidenciar la variación de la carga microbiana del queso fresco sin marca.

Tabla 7. Codificación de las muestras seleccionadas.

N°	Nombre del Mercado o Plaza	Codificación
1	Mercado Modelo	MM
2	Mercado Central	MC
3	Mercado Urbina	MU
4	Mercado Cristóbal Colon	MCC
5	Mercado Mayorista de Ambato	MMA
6	Mercado Sur	MS
7	Mercado América	MA
8	Mercado Simón Bolívar	MSB

Elaborado por: Maria Belen Paucar, 2023.

2.2.2. Identificación de los patógenos alimentarios *Escherichia coli* (AOAC 991.14) y *Salmonella* spp. (NTE INEN 1529-15)

2.2.2.1. *Escherichia coli*.

Para la identificación de *Escherichia coli* se empleó el método cuantitativo y el método oficial AOAC 991.14, ya que es el método de ensayo mencionado en la norma NTE INEN 1528:2012 para quesos frescos no madurados.

Se pesó 10 g de la muestra proveniente del queso fresco y se diluyó en 90 ml de agua de peptona tamponada y se procedió a homogenizar, esto se consideró como la primera dilución (10^{-1}). A partir de esta dilución se realizó la segunda dilución 10^{-2} y consecutivamente hasta la dilución 10^{-5} , posteriormente se colocó las placas petrifilm

en una superficie plana e inocua y se procedió a levantar el film. Con una micropipeta se añadió 1 ml de la quinta dilución en el centro de la película inferior, evitando la formación de burbujas tras bajar la película. Posteriormente se procedió a incubar las placas petrifilm cara arriba en posición horizontal durante $48\text{h} \pm 2\text{h}$ a $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$. Finalmente se realizó el conteo de colonias a aquellas que presentaron coloración azul (3M, 2006). La siembra de las muestras se la realizó por triplicado. Para detallar los resultados obtenidos sobre el conteo *Escherichia coli* se utilizó la matriz descrita en el Anexo 2. Los resultados microbiológicos de *Escherichia coli* fueron expresados en UFC/g (unidades formadoras de colonias por gramo de muestra). Para la determinación del número de colonias formadoras por placa se usó la Ecuación (1).

$$\text{UFC} = \frac{\text{\#Colonias observadas} * \text{Inverso de la dilución}}{V}$$

Ecuación. 1

Donde:

V = Volumen inoculado

2.2.2.2. *Salmonella* spp.

Para la detección de *Salmonella* spp. se empleó el método cualitativo y lo detallado en la NTE INEN 1529-15:2009. Este método permitió identificar la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. en los quesos frescos. El Pre-enriquecimiento no selectivo se realizó pesando 25 g de la muestra de queso fresco y 225 ml de agua de peptona tamponada, se homogenizó y se incubó a 37°C por 16 a 20 horas. Luego se realizó un enriquecimiento selectivo con rappaport y 1 ml de la muestra pre-enriquecida, se dejó incubar a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h. La siembra en medios sólidos selectivos y diferenciales se realizó en placas de agar XLD, se añadió 0.1 ml de la primera dilución y con ayuda de un asa de Digrafsky se procedió a sembrar por el método de extensión,

seguidamente las cajas petri se incubaron a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 h (NTE INEN 1529-15:2009, 2009).

Las placas se examinaron entre 20 y 24 horas, si el crecimiento no es abundante y no existen colonias sugerentes de *Salmonella* spp. se procedió a examinar a las 48 horas de incubación. Las colonias con coloración negro brillante por presencia de *Salmonella* spp. fueron sometidas a pruebas bioquímicas de identificación. La siembra de las muestras se la realizó por triplicado. Para describir los resultados obtenidos sobre la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. se empleó la matriz del Anexo 3.

2.2.2.3. Identificación bioquímica

Las colonias sugerentes de *Salmonella* spp., fueron sometidas a pruebas bioquímicas básicas de identificación de bacilos Gram negativos, para esto se empleó el manual proporcionado por NOVA Laboratorios. Las pruebas bioquímicas de confirmación fueron: Simmons Citrato, LIA, TSI, Urea, SIM y MR-VP.

La siguiente Tabla 8 detalla los resultados que se deber obtener para confirmar la presencia de colonias de *Salmonella* spp.

Tabla 8. Pruebas bioquímicas de *Salmonella* spp.

Prueba	Positivo	Negativo	Reacción en especies de <i>Salmonella</i> spp.
Simmons Citrato	Crecimiento, color azul	Crecimiento, sin cambio de color	v
LIA	Ennegrecimiento	No ennegrecimiento	+
TSI	Ennegrecimiento	No ennegrecimiento	+
Urea	Color rosado	Sin cambios de color	-
SIM	Ennegrecimiento	No ennegrecimiento	+
MR-VP	Color rojo difuso	Color amarillo difuso	+

v: variable (Salmonelas móviles positivo, salmonelas inmóviles negativo).

Fuente: Tomado de (Bueno et al., 2016).

2.2.3. Evaluación de la carga microbiana de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. de los quesos muestreados

Para la determinación de la variación de la carga microbiana se empleó la metodología descrita en el apartado 2.2.2 a los 7 y 15 días después de la primera siembra.

Esto permitió evaluar si con el paso del tiempo la carga microbiana aumenta o disminuye, permitiendo inferir puntos críticos en el tiempo de conservación de los quesos frescos.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Sitios de muestreo en los mercados urbanos del cantón Ambato

La delimitación de la zona de muestreo se realizó mediante un estudio de la zona geográfica del cantón Ambato y con información proporcionada por el GAD de la Municipalidad de Ambato, la cual cuenta con registros de los mercados existentes en la ciudad de Ambato. Se estableció como objetivo el estudio del área de muestreo de la zona urbana del cantón Ambato. La Tabla 9 proporciona la información sobre los mercados que expenden quesos frescos sin marca y los números de puntos de venta de los cuales se tomó las respectivas muestras.

Tabla 9. Mercados elegidos para la toma de las muestras de queso fresco sin marca.

Nº	Nombre del mercado	Dirección	Número de puntos de venta
1	Mercado Modelo	Q95F+PXM, C. Eugenio Espejo	1
2	Mercado Central	Mercado Central, Marieta De Veintimilla	1
3	Mercado Urbina	Guayaquil 18-01	1
4	Mercado Cristóbal Colón	Bolívar 08-18 y Maldonado	1
5	Mercado Mayorista de Ambato	Las Tres Carabelas 830	1
6	Mercado Sur	Av. Antonio Clavijo P9V8+7CR	1
7	Mercado América	P9JQ+RQ4, Av Bolivariana	1
8	Mercado Simón Bolívar	Av. Los Chasquis y José García	1

Se obtuvo un total de 8 puntos de venta de quesos frescos sin marca, de los cuales se recolectó 3 muestras por mercado para el respectivo análisis microbiológico al día 0 y a los 7 y 15 días de almacenamiento en refrigeración, empleando la codificación de la Tabla 7.

Las condiciones de almacenamiento de los quesos en los sitios de muestreo fueron inapropiadas, en su gran mayoría, (ver Anexo 4 y 5), presentando ausencia de refrigeración, falta de mantenimiento en el punto de venta y de empaques sellados, lo que no asegura una inocuidad del producto. Al tener un inadecuado almacenamiento, los puntos críticos control (PCC) incrementan, exponiendo en riesgo al consumidor y aumentando las posibilidades de contraer (ETA).

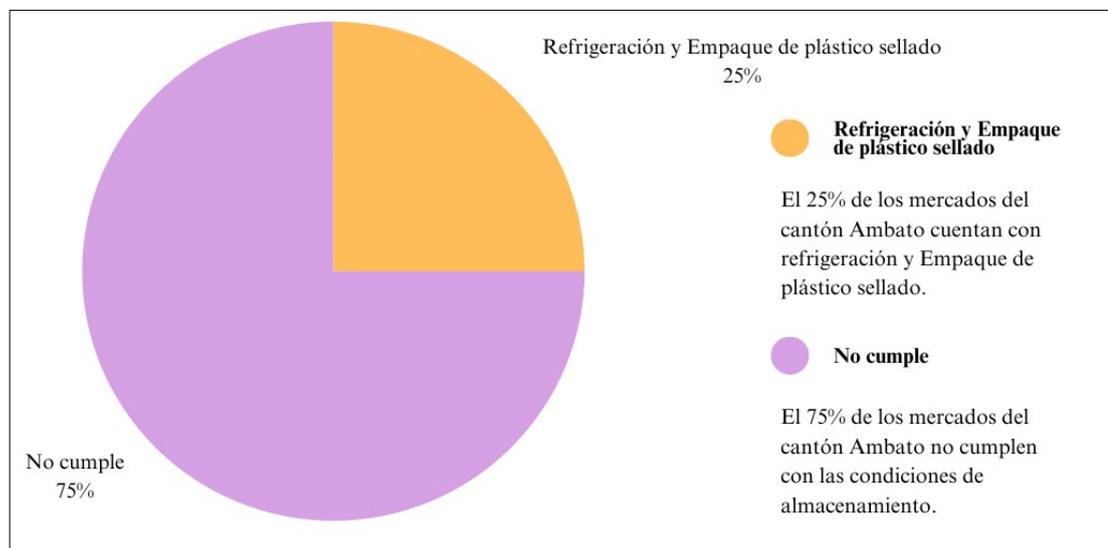


Figura 2. Porcentaje de cumplimiento de las condiciones de almacenamiento en los 8 mercados de la zona urbana del cantón Ambato.

Tras el análisis de la matriz de recolección de datos (ver Anexo 1) de las condiciones de almacenamiento como: refrigeración y empaque de plástico sellado en los mercados del cantón Ambato, se obtuvo que un 25% de las muestras recolectadas contaban con refrigeración y con empaque de plástico sellado y el 75% no presentaba las condiciones óptimas de almacenamiento, los valores se detallan en la Figura 2. Esto indica que ninguna de las muestras recolectadas cumple con las normativas básicas de higiene ni con las condiciones de almacenamiento ya mencionadas.

Los resultados obtenidos afirman lo mencionado por **Zago et al., (2022)**, estudio que hace referencia a que, las malas condiciones de almacenamiento pueden tener efectos negativos tanto físicos como químicos en el queso, además pueden provocar el crecimiento de bacterias patógenas, lo que puede inducir al deterioro y potencialmente causar ETA. De igual manera, la investigación realizada por **Vásquez Otalvora et al., (2012)** a las parroquias de Catedral y Juan de Villegas en Venezuela, concluyó que los centros de distribución de queso blanco fresco no cumplen con la infraestructura adecuada, además no cuentan con el control de las condiciones de almacenamiento (temperatura y humedad).

Las condiciones de almacenamiento de los alimentos es un punto crítico en la cadena de comercialización de los alimentos, si un alimento ha sido elaborado bajo óptimas condiciones no significa que está exento de riesgos, ya que, al no tener un correcto almacenamiento, la contaminación microbiana ocurre post producción, impidiendo que la empresa tenga control sobre su calidad e inocuidad.

3.2. Contaminación microbiológica por patógenos alimentarios

3.2.1. Presencia de *Escherichia coli* en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato

En la tabla 10 se muestran los resultados del recuento de *Escherichia coli* para los 8 mercados muestreados, obtenidos mediante el método oficial AOAC 991.14

Tabla 10. Resultados del recuento de *Escherichia coli* en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato. MNPC: muy numeroso para contar.

N°	Nombre del Mercado	Código de la muestra	<i>Escherichia coli</i> ufc/g	Normativa (NTE INEN 1528)
1	Mercado Central	MC0	MNPC	No cumple
		MC7	2×10^5	No cumple

		MM15	1×10^5	No cumple
2	Mercado Modelo	MM0	9×10^5	No cumple
		MM7	3×10^5	No cumple
		MM15	$< 1 \times 10^5$	No cumple
3	Mercado Simón Bolívar	MSB0	13×10^5	No cumple
		MSB7	1×10^5	No cumple
		MSB15	$< 1 \times 10^5$	No cumple
4	Mercado Urbina	MU0	4×10^5	No cumple
		MU7	$< 1 \times 10^5$	No cumple
		MU15	$< 1 \times 10^5$	No cumple
5	Mercado América	MA0	14×10^5	No cumple
		MA7	20×10^5	No cumple
		MA15	MNPC	No cumple
6	Mercado Sur	MS0	$< 1 \times 10^5$	No cumple
		MS7	29×10^5	No cumple
		MS15	13×10^5	No cumple
7	Mercado Mayorista de Ambato	MMA0	MNPC	No cumple
		MMA7	7×10^5	No cumple
		MMA15	5×10^5	No cumple
8	Mercado Cristóbal Colon	MCC0	2×10^5	No cumple
		MCC7	1×10^5	No cumple
		MCC15	$< 1 \times 10^5$	No cumple

De las 24 muestras de queso fresco sin marca recolectadas en los mercados urbanos del cantón Ambato, todas superan el límite permisible de <10 ufc/g según lo establecido en la normativa ecuatoriana para quesos frescos no madurados NTE INEN 1528. La presencia de *Escherichia coli* en los quesos es un indicador de inocuidad, principalmente de contaminación fecal durante la producción de queso y lo confirma la investigación realizada por **Temelli et al., (2006)** en el cual menciona que la contaminación del queso, puede ocurrir durante la producción, mientras que **Brito et**

al., (2008) asegura que ocurre durante el almacenamiento. El comportamiento y crecimiento de la *Escherichia coli* en varios quesos puede variar según factores como el tipo de queso y la temperatura de almacenamiento (**Kim et al., 2014**).

Los resultados obtenidos contrastan con el estudio realizado por **López Estrada, (2017)** en 100 muestras de queso fresco obtenidos del mercado 10 de noviembre de la ciudad de Guaranda, en donde el 44% de las muestras superan el límite establecido para *Escherichia coli* de <10 ufc/g. De igual manera, **Alerte et al., (2012)** en su investigación a 30 muestras de queso fresco en la ciudad de Cajamarca obtuvo una incidencia del 33,3% de *Escherichia coli*.

Según los resultados de (**Jang et al., 2017a**) la *Escherichia coli* puede crecer rápidamente en condiciones óptimas, temperatura de 36 °C, pH de 7,0 y una actividad de agua (aw) de 0,9. Sin embargo, la actividad de agua y el pH son los factores más importantes que influyen en el crecimiento de la *Escherichia coli* en el queso, esto debido a que dicho alimento contiene una alta actividad de agua de 0,9, de tal manera que favorece directamente al desarrollo de los microorganismos (**Arévalo, 2014**). La fuente de *Escherichia coli* en los quesos comúnmente suele ser la leche cruda contaminada por restos fecales (**Dos Santos et al., 2022**).

La cultura de consumo de quesos a nivel mundial ha impulsado la vigilancia de la contaminación por patógenos alimentarios, en países como Francia, los quesos son realizados sin pasteurización de la leche, no obstante, los sabores únicos de estos quesos son resultado de la fermentación realizada por las propias bacterias ácido lácticas de la leche. La atención debe darse en los alimentos que se están volviendo en reservorios de estos patógenos alimentarios.

Los resultados presentados en la Figura 3, muestran que de los 8 mercados analizados al día 0 el 87,5% son positivos a la presencia de *Escherichia coli*, mientras que el 12,5%, es decir un solo mercado (Mercado Sur), es negativo a la presencia de dicho microorganismo, esto se puede asociar a que el queso se mantenía en refrigeración durante la venta (ver Anexo 7), ralentizando el crecimiento de los microorganismos. Esto concuerda con lo mencionado por **Rios et al., (2020)** durante su investigación, donde informa que varios factores durante la elaboración y la maduración del queso,

incluida la concentración de cloruro de sodio y la temperatura de almacenamiento, pueden causar un efecto sobre el crecimiento de la *Escherichia coli*.

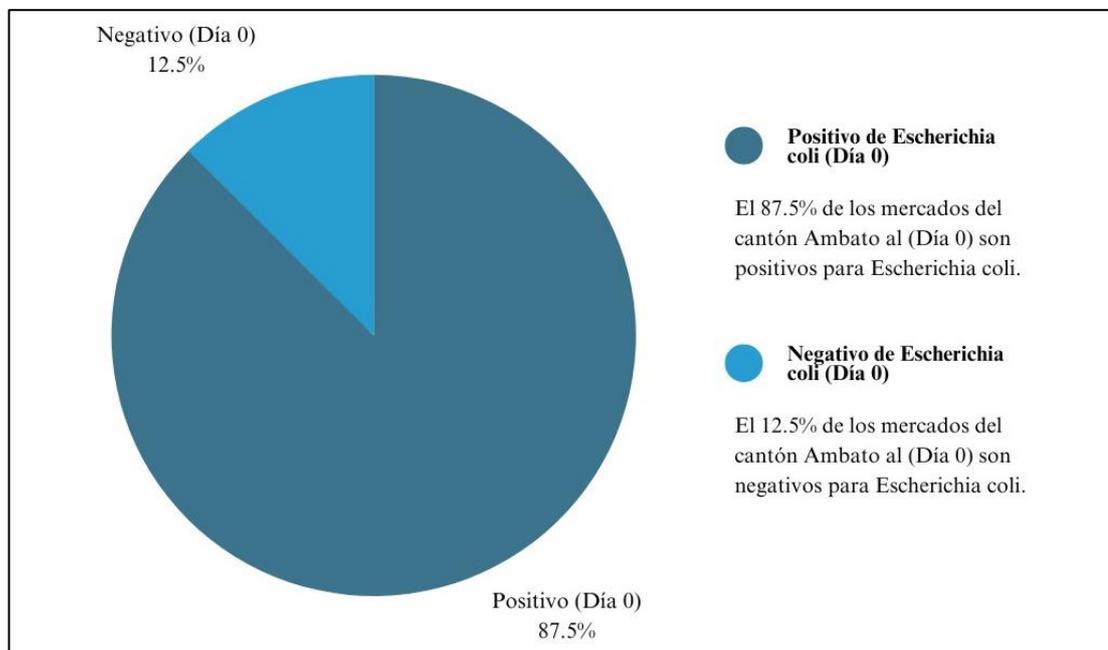


Figura 3. Porcentaje de muestras de queso fresco positivas y negativas de *Escherichia coli* en los mercados urbanos del cantón Ambato al Día 0.

Los resultados de la Figura 4, indican que al día 7 de refrigeración el 87,5% de los mercados son positivos a la presencia de *Escherichia coli*, por el contrario, el 12,5%, es decir un mercado correspondiente al Mercado Urbina es ausente a la presencia de dicho microorganismo, aunque en el día 0 dicho mercado tuvo un conteo microbiano de 4×10^5 ufc/g (ver Tabla 10), la baja carga microbiana se puede deber a que, en el punto de venta el queso se comercializaba en condiciones óptimas de almacenamiento (ver Anexo 6). Además, estos resultados se relacionan con la curva de crecimiento microbiano, ya que al día 0 la carga microbiana se encontraría en su fase logarítmica, en donde la población microbiana aumenta para posteriormente pasar a la fase de muerte, en el cual la población de *Escherichia coli* empieza a disminuir debido a la falta de nutrientes o por condiciones desfavorables en este caso, los quesos analizados fueron almacenados en refrigeración, lo que induciría a la disminución de la carga microbiana (ver Anexo 19) (Assis et al., 2011).

Durante los 7 días de almacenamiento en refrigeración, los quesos estuvieron completamente aislados de cualquier contaminación externa. El recuento microbiano que se ve en este punto del tiempo, son bacterias que estuvieron presentes en los quesos, ya sea por contaminación en la producción o en su venta. Este resultado es importante, ya que genera una relación directa con las condiciones de venta de un producto y sobre todo, durante los 7 días el crecimiento bacteriano no se detiene, siendo un posible foco de contaminación para el consumidor.

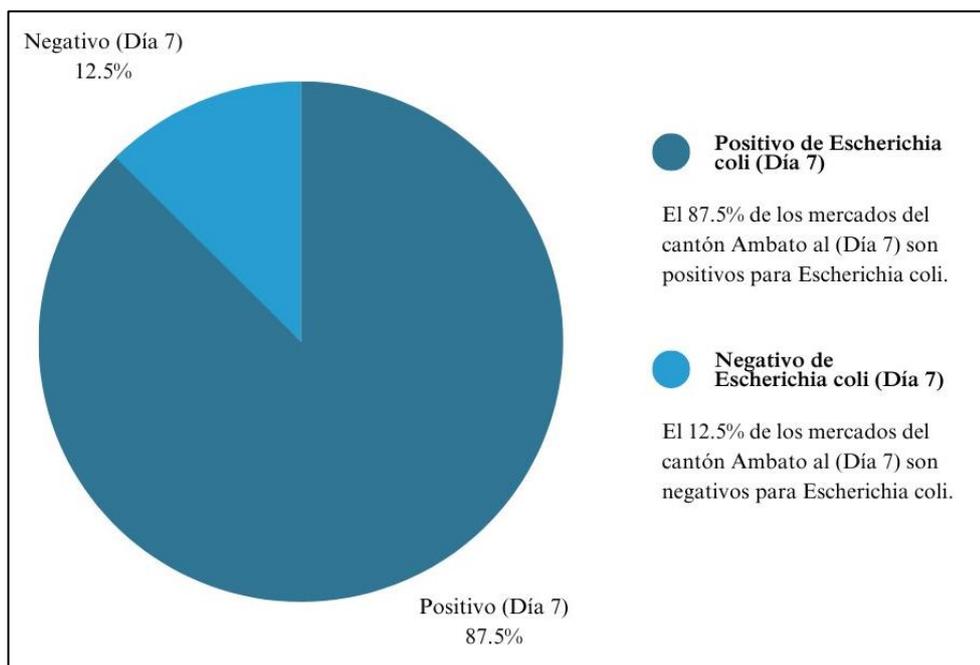


Figura 4. Porcentaje de muestras de queso fresco positivas y negativas de *Escherichia coli* en los mercados urbanos del cantón Ambato al Día 7.

Los resultados de la Figura 5, indican que al día 15 de refrigeración, el 50% de los mercados son positivos a la presencia de *Escherichia coli*, (MC, MA, MS y MMA); esto se puede deber a que, durante este tiempo transcurrido, la competencia por nutrientes a la que se enfrentan los microorganismos presentes en el queso, haya limitado el acceso a nutrientes a *Escherichia coli*, permitiendo el crecimiento de las demás bacterias. Este resultado es similar a lo mencionado por **Maifreni et al., (2013)** en su investigación de bacterias de la familia Enterobacteriaceae en quesos Montasio, en donde no se detectó *Escherichia coli* en un periodo de 60 días de maduración. Esto

se debe a la presencia de bacterias ácido lácticas (BAL) responsables de la maduración de los quesos, durante este proceso se liberan ácidos que controlan el crecimiento de patógenos, por este motivo la maduración de los quesos es considerado un método de conservación. Sin embargo, los quesos analizados en este trabajo fueron quesos frescos, una fermentación posterior implicaría el deterioro de este producto y la pérdida de sus características organolépticas, es decir, a los 15 días de almacenamiento este producto no debería ser consumido.

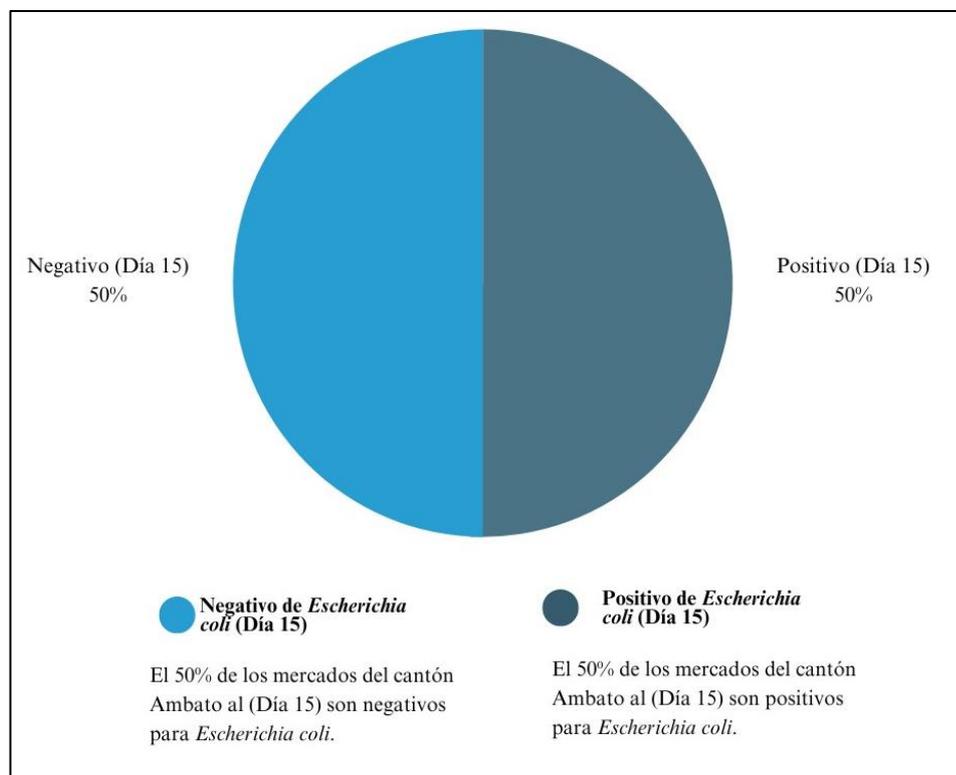


Figura 5. Porcentaje de muestras de queso fresco positivas y negativas de *Escherichia coli* en los mercados urbanos del cantón Ambato al Día 15.

En la Figura 6 se muestran las placas petrifilm para *Escherichia coli*, pertenecientes a las muestras del Mercado Mayorista de Ambato a los 0 días (Figura 6A), 7 días (Figura 6B) y 15 días (Figura 6C). Según la Guía de interpretación del fabricante (3M, 2006), cuando el color del medio se torna de un color mucho más oscuro, se debe a una cantidad excesiva de microorganismos. Por otra parte, el análisis en el día 7 reflejó una disminución de las colonias y la aparición de colonias azules, significando la presencia

de *Escherichia coli*, esta tendencia a la disminución de las colonias se pudo reflejar en el día 15 de almacenamiento por refrigeración, en donde se observa una disminución de las colonias a 5×10^5 ufc/g. El Mercado Mayorista presentó malas condiciones de almacenamiento (ver Anexo 4) provocando que los microorganismos patógenos puedan desarrollarse de manera óptima.

Estos resultados confirman lo mencionado por **Lorenzo et al., (2018)** en su estudio a los principales grupos de microorganismos de importancia para la seguridad de los alimentos, donde menciona que, los alimentos que se almacenan a temperaturas entre 4,4 y 60 °C (zona de peligro) proporcionan un entorno ideal para el crecimiento de bacterias patógenas, logrando multiplicar sus colonias rápidamente cada 20 minutos. Además, los alimentos que se almacenan durante demasiado tiempo también pueden provocar el crecimiento de bacterias, incluso si se almacenan a la temperatura correcta. Estos resultados confirman que, a pesar de haber almacenado los quesos en refrigeración, no se inhibió el crecimiento de *Escherichia coli*, debido a la alta carga inicial microbiana.

La vigilancia epidemiológica de *Escherichia coli* en quesos frescos es de vital importancia debido a los riesgos potenciales que esta bacteria puede representar para la salud pública. *Escherichia coli*, especialmente ciertas cepas patógenas como la *E. coli* O157:H7, puede causar enfermedades graves, incluyendo infecciones gastrointestinales, síndrome urémico hemolítico y otras complicaciones que pueden ser mortales, especialmente en poblaciones vulnerables como niños pequeños, personas de edad avanzada y aquellos con sistemas inmunológicos debilitados. Adicionalmente, identificar el origen de estas cepas sería útil para generar estrategias de control y sobre todo, capacitaciones efectivas a todos los actores de la cadena de producción de los quesos.

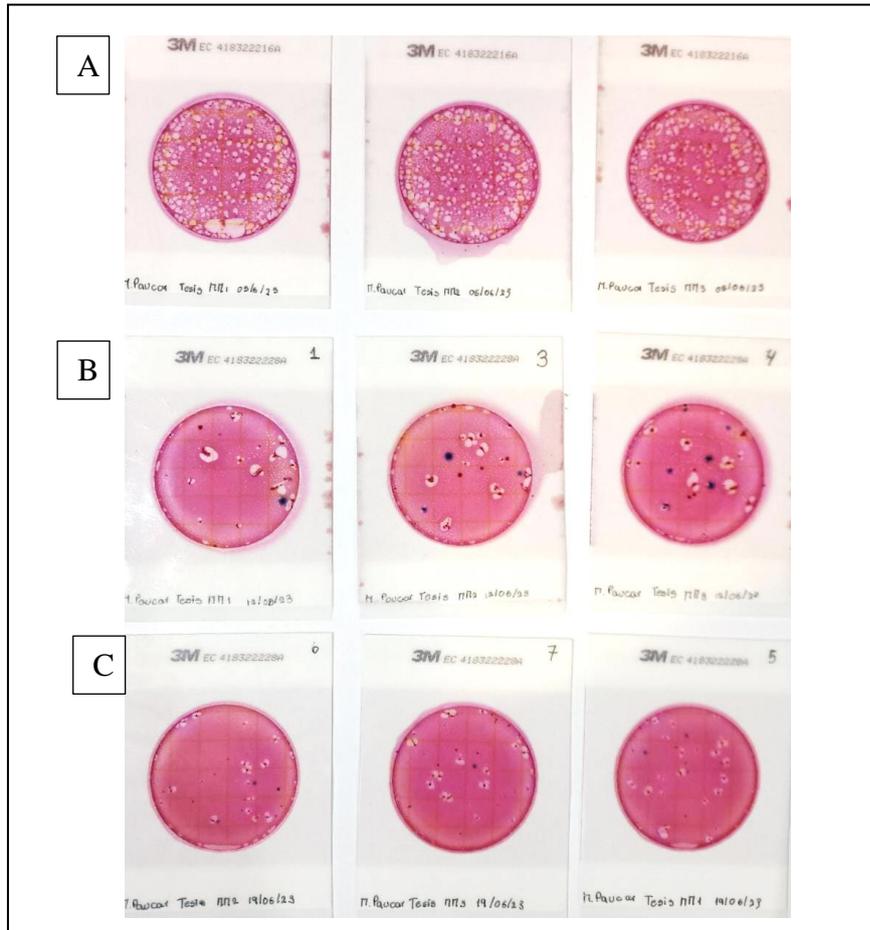


Figura 6. Formación de colonias de *Escherichia coli* (color azul) en el Mercado Mayorista de Ambato. (A): muestra a los 0 días, (B): muestra a los 7 días, (C): muestra a los 15 días.

3.2.2. Presencia de *Salmonella* spp. en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato

La Tabla 11 muestra los resultados obtenidos del análisis microbiológico de *Salmonella* en los quesos frescos de la zona urbana del cantón Ambato.

Tabla 11. Resultados de la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato.

N°	Nombre del Mercado	Código de la muestra	<i>Salmonella</i> spp.			Normativa (NTE INEN 1528)
			Día 0	Día 7	Día 15	
1	Mercado Modelo	MM	Ausencia			Cumple
2	Mercado Central	MC	Ausencia			Cumple
3	Mercado Simón Bolívar	MSB	Ausencia			Cumple
4	Mercado Urbina	MU	Ausencia			Cumple
5	Mercado América	MA	Ausencia			Cumple
6	Mercado Sur	MS	Ausencia			Cumple
7	Mercado Mayorista de Ambato	MMA	Ausencia			Cumple
8	Mercado Cristóbal Colon	MCC	Ausencia			Cumple

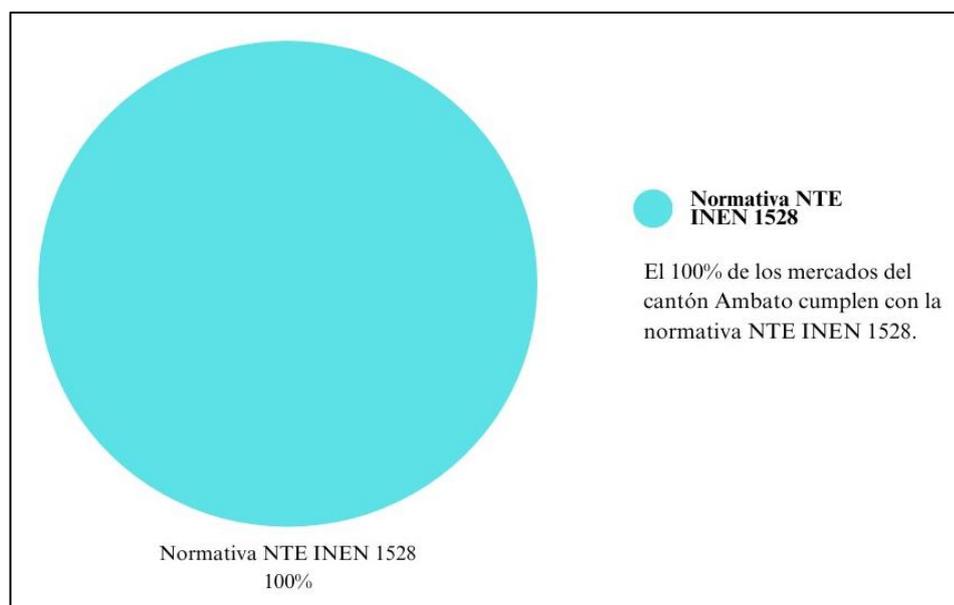


Figura 7. Porcentaje de muestras de queso fresco que cumplen con la normativa NTE INEN 1528.

Se analizaron un total de 24 muestras de queso fresco por triplicado, todos fueron negativos para *Salmonella* spp. Para expresar el porcentaje de muestras que cumplen o no con la normativa NTE INEN 1528, se utilizó la Figura 7, donde se puede observar de color celeste que el 100% de las muestras cumplen con lo establecido por la normativa. Muchos brotes de salmonelosis relacionados con el consumo de quesos se han reportado en todo el mundo en los últimos años, incluido el queso elaborado con leche cruda, lo que evidencia que *Salmonella* spp. también es un patógeno de preocupación en estas matrices alimentarias. Según el Reglamento Europeo N° 2073/2005, el criterio actual para *Salmonella* spp. en quesos es “ausencia” (no detección) del patógeno en 25 g de producto para productos comercializados durante su vida útil (**Lobacz & Zulewska, 2021**).

Lo anterior expuesto se contrasta con la investigación realizada **por Mendes et al., (2020)**, en el cual reporta una ausencia de *Salmonella* en muestras de quesos de cuajada estirada, esto se puede relacionar al uso de altas temperaturas de pasteurización de 55 °C – 88 °C. De igual manera **Gaibor, (2018)**, en su investigación a 36 muestras de queso semiseco y quesillo en Tegucigalpa, Honduras, detectó la ausencia de *Salmonella* spp. Por otra parte, el estudio realizado por **Borbolla et al., (2004)**, menciona que de las 2503 muestras tomadas en Tabasco solo una muestra de queso de hebra fue positiva para *Salmonella*, mientras que **Colorado, (2014)**, en su investigación reporta que de 120 muestras de queso expendidos en Conurbada Veracruz el 14,2% de las muestras indican la presencia de *Salmonella* spp. A su vez **Durango et al., (2004)**, identificó que de las 76 muestras de queso el 7,9% fueron positivas para dicho microorganismo. Lo antes mencionado indica que *Salmonella* spp. en gran parte de las investigaciones está ausente, estos resultados se consideran como un indicador de la aplicación de buenas prácticas sanitarias en los puntos de venta de quesos y es un importante estándar de seguridad y calidad que garantiza que el queso es seguro para el consumo (**Lobacz & Zulewska, 2021**).

Salmonella spp. puede crecer con la presencia o ausencia de oxígeno a una temperatura óptima de 35 – 43 °C, un pH de 7,5 y una aw de 0,99 (**American Meat Science Association, 2015**). La usencia de *Salmonella* spp. en los quesos se debe a varios factores como la pasteurización de la leche, acidez, pH, humedad, tamaño del inóculo iniciador, contenido de sal y sorbato de potasio (**Choi et al., 2016**). Según el estudio

realizado por **Shrestha et al., (2011)**, demostró que los quesos con un contenido de sal bajo, medio o alto y con un almacenamiento a temperaturas de refrigeración de 4, 10 y 21 °C son menos susceptibles a la presencia de *Salmonella* spp. hasta un tiempo de 90 días. Estos resultados concuerdan con los datos obtenidos durante esta investigación.

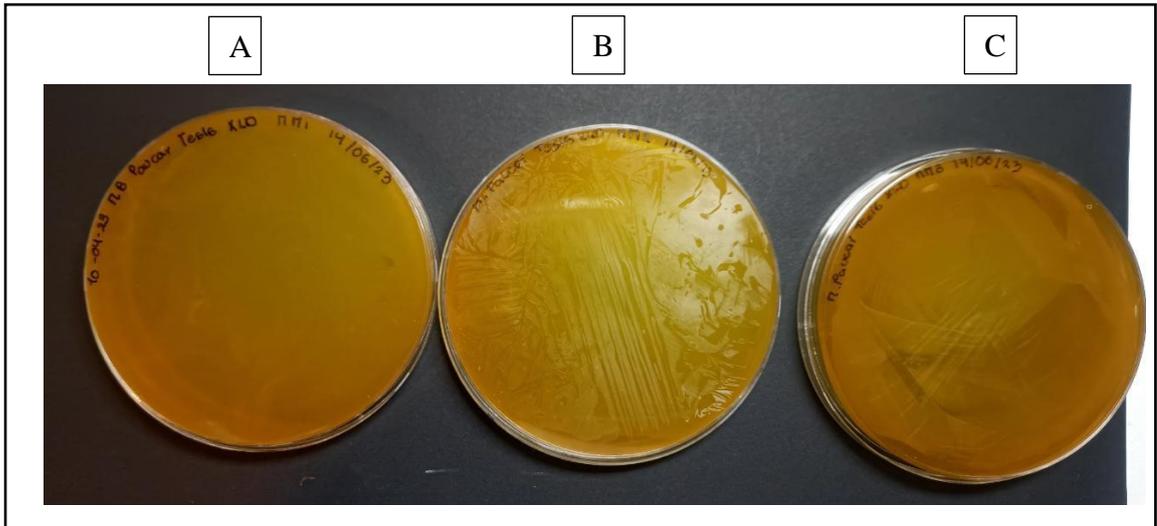


Figura 8. Ausencia de colonias de *salmonella* sembrada en medios XLD a partir de muestras de queso fresco sin marca recolectadas en el Mercado Mayorista de Ambato. **(A):** muestra a los 0 días. **(B):** muestra a los 7 días, **(C)** muestra a los 15 días.



Figura 9. Colonias de *Salmonella choleraesuis* sembrada en medios XLD a partir del hisopado de hígado y brazo de un ratón disectado luego de morir de infección por una cepa de *S. Enteritis*.

Fuente: Tomado de (Flores, 2003).

La Figura 8 muestra la ausencia de colonias de *Salmonella* spp. sembradas en el medio Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (Agar XLD), la coloración amarillenta de las placas se debe al cambio de pH y a la degradación de xilosa, sacarosa y lactosa a ácido, lo que produce que el indicador rojo fenol se vuelva de color amarillo (Murray et al., 2017). Por el contrario, en el caso de tener la presencia de *Salmonella* spp. el medio se tornaría de color rojo con colonias de color negro (ver Figura 9), esto debido a la fermentación de los ácidos y a la producción de sulfuro de hidrógeno (H₂S) (Guamán et al., 2019).

La investigación de Wang et al., (2013), menciona que *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* son microorganismos que pueden crecer juntos bajo ciertas condiciones en alimentos como la carne molida. Sin embargo, el crecimiento de estos microorganismos puede verse afectado por la competencia del crecimiento microbiano, disponibilidad de nutrientes y el nivel de la acidez, sugiriendo que las cepas de *Escherichia coli* pueden inhibir el crecimiento de *Salmonella* spp. Además, Costa et al., 2013; Soares et al., (2018) afirman que la no identificación de *Salmonella* spp. también se puede deber a la competitividad de las bacterias ácido lácticas (BAL)

a lo largo del proceso de maduración dando como resultado la ausencia o reducción de algunos microorganismos patógenos.

En cuanto a la coexistencia de estas dos bacterias, es importante tener en cuenta que tanto *Escherichia coli* como *Salmonella* spp. son bacterias patógenas que pueden causar ETA en los seres humanos. Sin embargo, cada una tiene sus propias características y requisitos de crecimiento. Existen varios factores que pueden influir en la capacidad de estas bacterias para crecer y sobrevivir juntas en un entorno determinado.

Ambas bacterias pueden tener diferentes rangos de temperatura, pH y requerimientos nutricionales para crecer. Estas diferencias pueden influir en su capacidad para coexistir en un mismo entorno. Por ejemplo, una temperatura o pH específico puede ser óptimo para el crecimiento de una bacteria, pero inhibir el crecimiento de la otra. *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. pueden competir por los recursos disponibles en un alimento. Si una de las bacterias tiene una ventaja competitiva en términos de adaptación al ambiente o capacidad de utilizar los nutrientes presentes, puede suprimir el crecimiento de la otra bacteria. Las bacterias pueden tener interacciones tanto beneficiosas como perjudiciales entre sí. Algunas cepas de bacterias pueden producir sustancias que inhiben el crecimiento de otras bacterias, lo que podría afectar la capacidad de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. para coexistir.

Las dos bacterias actúan de forma diferente en el intestino de los seres humanos, *Escherichia coli*, en particular ciertas cepas patógenas como *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), pueden producir toxinas como la toxina Shiga (también conocida como toxina Shiga-like o verotoxina) (Byrne et al., 2020), que es responsable de la mayoría de los síntomas asociados con las infecciones por EHEC. La toxina Shiga puede dañar las células del revestimiento del intestino y causar síntomas como diarrea sanguinolenta, cólicos abdominales y en casos más graves, síndrome urémico hemolítico (SUH) (Obrig, 2010). Por otro lado, la principal preocupación sobre *Salmonella* spp. radica en la capacidad de esta bacteria para invadir los tejidos del intestino y provocar una infección sistémica. *Salmonella* produce una variedad de factores de virulencia que le permiten adherirse a las células intestinales, invadir los tejidos y replicarse dentro de las células hospedadoras (Giannella, 1996).

En algunos estudios se ha observado que la presencia de ciertas cepas de *Escherichia coli* puede influir en la capacidad de *Salmonella* spp. para colonizar el intestino o puede afectar su capacidad de invasión y supervivencia (**Conway & Cohen, 2015**). Estas interacciones pueden ser complejas y dependen de múltiples factores, incluyendo las características específicas de las cepas involucradas y el entorno en el que interactúan.

Es importante destacar que la presencia o ausencia de una de estas bacterias en un alimento no garantiza necesariamente la ausencia o presencia de la otra. Cada bacteria tiene diferentes vías de contaminación y puede estar presente en un alimento debido a diferentes razones, como prácticas de higiene inadecuadas, contaminación ambiental, manipulación incorrecta, entre otros factores. Por lo tanto, es fundamental implementar buenas prácticas de manipulación de alimentos y medidas de control adecuadas para prevenir la presencia de cualquier bacteria patógena en los alimentos.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- De los 8 mercados muestreados el 25% cuentan con refrigeración y con empaque de plástico sellado, mientras que el 75% no cuenta con las condiciones óptimas de almacenamiento, lo que aumentan las probabilidades de contraer enfermedades transmitidas por los alimentos.
- Todas las muestras de queso fresco almacenadas en refrigeración a los 0, 7 y 15 días sobrepasaron el límite permisible de <10 ufc/g para *Escherichia coli* establecidos por la normativa ecuatoriana para quesos frescos no madurados NTE INEN 1528:2012. Al día 0, se obtuvo la ausencia de dicho microorganismo en el Mercado Urbina, mientras que en el día 7 la ausencia de *Escherichia coli* fue en el Mercado Sur, por otra parte, al día 15 el 50% de las muestras resultaron negativas a la presencia de *Escherichia coli*.
- Se determinó que existe una ausencia total de *Salmonella* en los días 0, 7 y 15 cumpliendo con lo establecido por la normativa ecuatoriana para quesos frescos no madurados NTE INEN 1528:2012.
- El análisis de la contaminación microbiana por patógenos alimentarios permite comprender el comportamiento de los patógenos en matrices alimentarias. Los quesos frescos presentan características favorables para el crecimiento de microorganismos, y con base en estos resultados, consumir quesos frescos luego de 7 y 15 días de refrigeración no garantiza su inocuidad.

4.2. Recomendaciones

- Se recomienda realizar un incremento de las muestras a analizar para lograr una visión amplia de la inocuidad de los quesos que se expenden en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato.
- Realizar un seguimiento a la inocuidad alimentaria de los mercados de la zona urbana de Ambato, con énfasis en sus condiciones de almacenamiento y venta de productos alimenticios.
- Ampliar la identificación de microorganismos patógenos en los procesos de producción, transporte, almacenamiento y punto de venta, con el objetivo de determinar cuál es el origen de la contaminación microbiológica.
- Realizar una serotipificación de las cepas encontradas de *Escherichia coli* para identificar los patotipos que se encuentran dentro de los mercados de la zona urbana del cantón Ambato y asociarlos a brotes alimentarios reportados.
- Se sugiere realizar capacitaciones a los comerciantes que laboran en los mercados de la zona urbana del cantón Ambato, con el fin de dar a conocer cuáles son los métodos de conservación y manipulación de alimentos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 3M. (2006). *Placas Petrifilm para el Recuento de E. coli/Coliformes*. <https://multimedia.3m.com/mws/media/1624098O/3m-petrifilm-placas-e-coli-ec-guia-de-interpretacion.pdf>
- Ajmera, A., & Shabbir, N. (2022). Salmonella. *Laboratory Models for Foodborne Infections*, 391–400. <https://doi.org/10.1201/9781315120089-26>
- Alerte, V., Sandra Cortés, A., Janepsy Díaz, T., Jeannette Vollaire, Z., Espinoza, M. E. M., Verónica Solari, G., Jaime Cerda, L., & Marisa Torres, H. (2012). Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y agua en la Región Metropolitana, Chile (2005-2010). *Revista Chilena de Infectología*, 29(1), 26–31. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182012000100004>
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M., & Di Ilio, C. (2013). Escherichia coli in Europe: An Overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2013, Vol. 10, Pages 6235-6254, 10(12), 6235–6254. <https://doi.org/10.3390/IJERPH10126235>
- American Meat Science Association. (2015). *Salmonella Fact Sheet*.
- Andino, A., & Hanning, I. (2015). Salmonella enterica: Survival, Colonization, and Virulence Differences among Serovars. *The Scientific World Journal*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/520179>
- Assis, A., Valadão, G., & Cisalpino, P. (2011). *LEVANTAMENTO DA CURVA DE CRESCIMENTO DA BACTÉRIA M. PHLEI PARA OBTENÇÃO DE BIOMASSA EM ENSAIOS DE SEPARAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO*.
- Barukčić, I., Ščetar, M., Marasović, I., Lisak Jakopović, K., Galić, K., & Božanić, R. (2020). Evaluation of quality parameters and shelf life of fresh cheese packed under modified atmosphere. *Journal of Food Science and Technology*, 57(7), 2722–2731. <https://doi.org/10.1007/S13197-020-04308-6/FIGURES/5>
- Bavishi, C., & DuPont, H. (2023). Systematic review: The use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection. *Alimentary*

- Pharmacology and Therapeutics*, 34(11–12), 1269–1281.
<https://doi.org/10.1111/J.1365-2036.2011.04874.X/FULL>
- Bintsis, T. (2017). Foodborne pathogens. *AIMS Microbiology*, 3(3), 529.
<https://doi.org/10.3934/MICROBIOL.2017.3.529>
- Borbolla, M., Vidal, R., Piña, O., Ramírez, I., & Vidal, J. (2004). *Contaminación de los alimentos por Vibrio cholerae, coliformes fecales, Salmonella, hongos, levaduras y Staphylococcus aureus en Tabasco durante 2003*. 10(2), 221–232.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48710206>
- Brito, J. R. F., Santos, E. M. P., Arcuri, E. F., Lange, C. C., Brito, M. A. V. P., Souza, G. N., Cerqueira, M. M. P. O., Beiran, J. M. S., Call, J. E., Liu, Y., Porto-Fett, A. C. S., & Luchansky, J. B. (2008). Retail survey of Brazilian milk and Minas frescal cheese and a contaminated dairy plant to establish prevalence, relatedness, and sources of *Listeria monocytogenes* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(15), 4954–4961. <https://doi.org/10.1128/AEM.01828-07/ASSET/DBE8A7E0-11A1-4D23-BDF8-308BB42DCC00/ASSETS/GRAPHIC/ZAM0150890610003.JPEG>
- Bueno, D., Soria, M., Genta, G., Procura, F., & Rodriguez, F. (2016). *Salmonella* sp. en cama de aves. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*.
- Byrne, L., Adams, N., & Jenkins, C. (2020). Association between Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* O157:H7 stx Gene Subtype and Disease Severity, England, 2009–2019. *Emerging Infectious Diseases*, 26(10), 2394.
<https://doi.org/10.3201/EID2610.200319>
- Choi, K. H., Lee, H., Lee, S., Kim, S., & Yoon, Y. (2016). Cheese Microbial Risk Assessments — A Review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 29(3), 307. <https://doi.org/10.5713/AJAS.15.0332>
- Colorado, J. de J. (2014). *Identificación de serotipos patógenos del género Salmonella a partir de queso fresco expendido en la zona Conurbada Veracruz - Boca del Río*. Universidad Veracruzana .
- Conway, T., & Cohen, P. S. (2015). Commensal and Pathogenic *Escherichia coli* Metabolism in the Gut . *Microbiology Spectrum*, 3(3).

<https://doi.org/10.1128/MICROBIOLSPEC.MBP-0006-2014/ASSET/611DED69-D45A-4A41-87C0-404D01065E91/ASSETS/GRAPHIC/MBP-0006-2014-FIG1.GIF>

- Costa, H. H. S., Souza, M. R., Acúrcio, L. B., Cunha, A. F., Resende, M. F. S., & Nunes, Á. C. (2013). Potencial probiótico in vitro de bacterias ácido-láticas isoladas de queijo-de-minas artesanal da Serra da Canastra, MG [Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Minas artisanal cheese from Serra da Canastra, MG]. In *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec* (Issue 6).
- Crum, N. (2008). Salmonellosis and the gastrointestinal tract: More than just peanut butter. *Current Gastroenterology Reports*, 10(4), 424–431. <https://doi.org/10.1007/S11894-008-0079-7>
- Delgado Bernal, D. S., Villacreses Veliz, E. G., Solórzano Solórzano, S. E., & Delgado López, D. (2021). Vigilancia epidemiológica y actividades de atención primaria en salud (APS) del Ecuador. *RECIMUNDO*, 5(1), 286–297. [https://doi.org/10.26820/recimundo/5.\(1\).enero.2021.286-297](https://doi.org/10.26820/recimundo/5.(1).enero.2021.286-297)
- Desmarchelier, P., & Fegan, N. (2002). ESCHERICHIA COLI. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 948–954. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00158-9>
- Díaz, M., García, M., Jiménez, J., & Villanueva, A. (2015). *Inocuidad en alimentos tradicionales: el queso de Poro de Balancán como un caso de estudio*. <https://www.redalyc.org/journal/417/41744004004/html/>
- Dos Santos, R. A., Araújo, G. B., Correia, E. F., & Costa Sobrinho, P. D. S. (2022). Minas Artisanal Cheese As Potential Source of Multidrug-Resistant Escherichia coli. *Foodborne Pathogens and Disease*, 19(5), 316–323. <https://doi.org/10.1089/FPD.2021.0102>
- Durango, J., Arrieta, G., & Mattar, S. (2004). Presencia de Salmonella spp. en un área del Caribe colombiano: un riesgo para la salud pública. In *Biomédica* (Vol. 24).
- Ehuwa, O., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2021). Salmonella, Food Safety and Food Handling Practices. *Foods*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/FOODS10050907>

- Ekici, G., & Dümen, E. (2019). *Escherichia coli* and Food Safety. *The Universe of Escherichia Coli [Working Title]*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.82375>
- Escherichia coli (E.coli) | FDA*. (n.d.). Retrieved May 8, 2023, from <https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/escherichia-coli-e-coli>
- Estrada-Garcia, T., & Tarr, P. I. (2023a). *Escherichia Coli*. *Foodborne Infections and Intoxications*, 125–163. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819519-2.00018-9>
- Estrada-Garcia, T., & Tarr, P. I. (2023b). *Escherichia Coli*. *Foodborne Infections and Intoxications*, 125–163. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819519-2.00018-9>
- Ethelberg, S., Mølbak, K., & Josefsen, M. H. (2014). Bacteria: Salmonella Non-Typhi. *Encyclopedia of Food Safety, 1*, 501–514. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-378612-8.00112-8>
- Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chavez, V., Montoya, H., Varela, I., Ruiz, J., Lagos, S., & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284–2298. https://doi.org/10.37811/CL_RCM.V5I2.433
- Flores, L. (2003). *Caracterización Fenotípica y Genotípica de Estirpes de Salmonella choleraesuis aisladas de ambientes marinos*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos .
- Gaibor, M. (2018). *Incidencia de E. coli O157 y Salmonella spp. en queso semiseco y quesillo artesanal en seis puntos de venta en Tegucigalpa*. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano .
- Giannella, R. A. (1996). *Salmonella*. *Medical Microbiology*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8435/>
- Guamán, J., Bayas-Morejón, F., Ramón-Curay, R., Segura-Ochoa, J., García-Cáceres, I., & Nuñez, D. (2019). DETECTION OF HELICOBACTER PYLORI BY POLYMERASE CHAIN REACTION FROM FECES OF ASYMPTOMATIC PATIENTS. *Biotech. Env. Sc*, 21(4), 941–944. <https://doi.org/10.1111/hel.12344/abstract>

- Guinee, T. P. (2022). Cheese Rheology and Texture. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 112–130. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00199-9>
- Hariri, S. (2022). Detection of Escherichia coli in Food Samples Using Culture and Polymerase Chain Reaction Methods. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.32808>
- IICA. (n.d.). *Procesados de lácteos*. Retrieved May 2, 2023, from <https://www.fao.org/3/au170s/au170s.pdf>
- Jang, J., Hur, H. G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017a). Environmental Escherichia coli: ecology and public health implications—a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570–581. <https://doi.org/10.1111/JAM.13468>
- Jang, J., Hur, H., Sadowsky, M., Byappanahalli, M., Yan, T., & Ishii, S. (2017b). Environmental Escherichia coli: ecology and public health implications—a review. In *Journal of Applied Microbiology* (Vol. 123, Issue 3, pp. 570–581). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jam.13468>
- Jeannine, S. (2013). *Biological, chemical and physical hazards assessed with HACCP - MSU Extension*. Michigan State University. https://www.canr.msu.edu/news/biological_chemical_and_physical_hazards_assessed_with_haccp
- Jones, F. T. (2011a). A review of practical Salmonella control measures in animal feed. *Journal of Applied Poultry Research*, 20(1), 102–113. <https://doi.org/10.3382/JAPR.2010-00281>
- Jones, F. T. (2011b). A review of practical Salmonella control measures in animal feed. *Journal of Applied Poultry Research*, 20(1), 102–113. <https://doi.org/10.3382/JAPR.2010-00281>
- Kim, K., Lee, H., Gwak, E., & Yon, Y. (2014). Kinetic Behavior of Escherichia coli on Various Cheeses under Constant and Dynamic Temperature. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(7), 1013. <https://doi.org/10.5713/AJAS.2013.13579>

- Lobacz, A., & Zulewska, J. (2021). Fate of Salmonella spp. in the Fresh Soft Raw Milk Cheese during Storage at Different Temperatures. *Microorganisms*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9050938>
- López Estrada, E. M. (2017). *Determinación de Escherichia Coli en Quesos Artesanales que se expende en el Mercado Diez de Noviembre de la Ciudad de Guaranda*. <https://dspace.ueb.edu.ec/handle/123456789/1792>
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J. A., & Franco, D. (2018). Main Groups of Microorganisms of Relevance for Food Safety and Stability: General Aspects and Overall Description. *Innovative Technologies for Food Preservation*, 53. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811031-7.00003-0>
- Maifreni, M., Frigo, F., Bartolomeoli, I., Innocente, N., Biasutti, M., & Marino, M. (2013). Identification of the Enterobacteriaceae in Montasio cheese and assessment of their amino acid decarboxylase activity. *The Journal of Dairy Research*, 80(1), 122–127. <https://doi.org/10.1017/S002202991200074X>
- Marcogliese, D. J. (2002). Food webs and the transmission of parasites to marine fish. *Parasitology*, 124 Suppl(SUPPL.). <https://doi.org/10.1017/S003118200200149X>
- Mendes, D. M. de S., Bastos, B. V., Koki, C. R., Bach, D., Contini, G. K., Mattos, L. A. de, Cubo, M. F., Wosiack, P. A., Silva, R. G. da, Barboza, R. A., Valério, T. P., Lacerda, L. G., Esmerino, L. A., & Nogueira, A. (2020). Assessment of Microbial Contamination in Products of Animal Origin: Stretched-curd Cheese, Yogurt and Fresh Sausage. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 63, 2–7. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2020190759>
- Murgia, M. A., Deiana, P., Nudda, A., Correddu, F., Montanari, L., & Mangia, N. P. (2020). Assessment of Microbiological Quality and Physicochemical Parameters of Fruhe Made by Ovine and Goat Milk: A Sardinian (Italy) Cheese. *Fermentation* 2020, Vol. 6, Page 119, 6(4), 119. <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION6040119>
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2017). Microbiología médica 8th Edition. *Microbiología Médica*, 162–169.

<https://www.clinicalkey.com/student/content/book/3-s2.0-B9788491130765000172#hl0000397>

- Nova Laboratorios. (n.d.). *Pruebas Bioquímicas, Microbiología*. Retrieved July 1, 2023, from <https://novalaboratorio.com/producto/bioquimicas/>
- NTE INEN 1528:2012. (2012a). *Norma general para quesos frescos no madurados requisitos*.
- NTE INEN 1528:2012. (2012b). Norma general para quesos frescos no madurados requisitos. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*, 1–9.
- NTE INEN 1529-15:2009. (2009). Control microbiológico de los alimentos Salmonella método de detección. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*, 1–24.
- NTE INEN-ISO 707. (2008). Leche y productos lácteos directrices para la toma de muestras. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*, 1–49.
- Obrig, T. G. (2010). Escherichia coli Shiga Toxin Mechanisms of Action in Renal Disease. *Toxins*, 2(12), 2769. <https://doi.org/10.3390/TOXINS2122769>
- Presser, K. A., Ross, T., & Ratkowsky, D. A. (1998). Modelling the Growth Limits (Growth/No Growth Interface) of Escherichia coli as a Function of Temperature, pH, Lactic Acid Concentration, and Water Activity. In *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY* (Vol. 64, Issue 5). <https://journals.asm.org/journal/aem>
- Rios, E. A., Ramos-Pereira, J., Santos, J. A., López-Díaz, T. M., Otero, A., & Rodríguez-Calleja, J. M. (2020). Behaviour of Non-O157 STEC and Atypical EPEC during the Manufacturing and Ripening of Raw Milk Cheese. *Foods*, 9(9). <https://doi.org/10.3390/FOODS9091215>
- Safavieh, M., Nahar, S., Zourob, M., & Ahmed, M. U. (2015). Microfluidic biosensors for high throughput screening of pathogens in food. *High Throughput Screening for Food Safety Assessment: Biosensor Technologies, Hyperspectral Imaging and Practical Applications*, 327–357. <https://doi.org/10.1016/B978-0-85709-801-6.00015-0>

- Sarrionandia, M., Aladueña, A., Díez, R., Arroyo, M., Cerdán, F., Gutiérrez, R., De La Fuente, M., González, R., Herrera, S., & Usera, M. (2005). Distribución de los serotipos y fagotipos de Salmonella de origen humano aislados en España en 1997-20. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 23(3), 127–134. <https://doi.org/10.1157/13072161>
- Servin, A. L. (2014). Pathogenesis of human diffusely adhering Escherichia coli expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): Current insights and future challenges. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 823–869. <https://doi.org/10.1128/CMR.00036-14>
- Shrestha, S., Grieder, J. A., McMahon, D. J., & Nummer, B. A. (2011). Survival of Salmonella Serovars Introduced as a Post-Aging Contaminant during Storage of Low-Salt Cheddar Cheese at 4, 10, and 21 °C. *Journal of Food Science*, 76(9). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02430.x>
- Smith, R. P., Barraza, I., Quinn, R. J., & Fortoul, M. C. (2020). The mechanisms and cell signaling pathways of programmed cell death in the bacterial world. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 352, 1–53. <https://doi.org/10.1016/BS.IRCMB.2019.12.002>
- Soares, D. B., Monteiro, G. P., Fonseca, B. B., Freitas, E. A., Mendonça, E. P., De Melo, R. T., Iasbeck, J. R., & Rossi, D. A. (2018). Sanitary and physicochemical analysis and bacteriological adequacy of Minas artisanal cheese produced in two properties. *Ciencia Animal Brasileira*, 19. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v19e-36499>
- Tapia, M. S., & Arispe, I. (2007). Inocuidad y calidad: requisitos indispensables para la protección de la salud de los consumidores. In *Agroalimentaria* (Vol. 12, Issue 24). Centro de Investigaciones Agroalimentarias (CIAAL). http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-03542007000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Temelli, S., Anar, Ş., Sen, C., & Akyuva, P. (2006). Determination of microbiological contamination sources during Turkish white cheese production. *Food Control*, 17(11), 856–861. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.05.012>

- Varela, Z. S., Lavallo, L. P., & Alvarado, D. E. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Revista Salud Uninorte*, 32(1), 105–122. <https://doi.org/10.14482/SUN.32.1.8598>
- Vásquez Otalvora, N. C., Duran, L., Sánchez, C., & Acevedo, I. (2012). Evaluación de las buenas prácticas de fabricación del queso blanco en seis distribuidores del estado Lara. *Zootecnia Tropical*, 30(4), 317–326. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692012000400002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Vidal, J. E., Canizález-Román, A., Gutiérrez-Jiménez, J., & Navarro-García, F. (2007). Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. *Salud Pública de México*, 49(5), 376–386. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342007000500008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Wang, R., Kalchayanand, N., Schmidt, J. W., & Harhay, D. M. (2013). Mixed Biofilm Formation by Shiga Toxin–Producing *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Enhanced Bacterial Resistance to Sanitization due to Extracellular Polymeric Substances. *Journal of Food Protection*, 76(9), 1513–1522. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-077>
- Wanigasekera, B. (2017). *Agent of Food borne Aquaculture View project Development of Marine Aquaculture in Sri Lanka View project*. www.foodstandards.gov.au
- Warriner, K. (2005). Pathogens in vegetables. *Improving the Safety of Fresh Fruit and Vegetables*, 3–43. <https://doi.org/10.1533/9781845690243.1.3>
- Woh, P. Y., Yeung, M. P. S., Nelson, E. A. S., & Goggins, W. B. (2021). Risk factors of non-typhoidal *Salmonella* gastroenteritis in hospitalised young children: a case–control study. *BMJ Paediatrics Open*, 5(1), e000898. <https://doi.org/10.1136/BMJPO-2020-000898>
- World Health Organization. (n.d.). *Foodborne diseases*. Retrieved May 2, 2023, from https://www.who.int/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab_1
- World Health Organization. (2018). *Salmonella (non-typhoidal)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

Zago, M., Bonvini, B., Rossetti, L., Fergonzi, G., Tidona, F., Giraffa, G., & Carminati, D. (2022). Raw Milk for Provolone Valpadana PDO Cheese: Impact of Modified Cold Storage Conditions on the Composition of the Bacterial Biota. *Dairy*, 3(4), 700–709. <https://doi.org/10.3390/DAIRY3040048/S1>

ANEXOS

	UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO										
	FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA										
	CARRERA DE ALIMENTOS										
TEMA:	Análisis de la contaminación microbiana de patógenos alimentarios en quesos frescos de sin marca de los mercados de las zonas urbanas del cantón Ambato.										
Recolección de datos de muestras de queso fresco sin marca											
N° muestra	Codificación	Peso de la muestra (g)	Procedencia	Características organolépticas		Refrigeración		Empaque de plástico sellado		Fecha de elaboración	Fecha de caducidad
				Color	Olor	Si	No	Si	No		
1	MC1	467,7	Mercado Central	Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
2	MC2	450,5		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
3	MC3	446,9		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
4	MM1	591,4	Mercado Modelo	Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
5	MM2	562,3		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
6	MM3	583,6		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
7	MSB1	576,8	Mercado Simón Bolívar	Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
8	MSB2	573,9		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
9	MSB3	590		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
10	MU1	430,9		Blanco	Agradable	X		X		N/D	N/D

11	MU2	476	Mercado Urbina	Blanco	Agradable	X		X		N/D	N/D
12	MU3	457		Blanco	Agradable	X		X		N/D	N/D
13	MA1	582,5	Mercado América	Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
14	MA2	562,5		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
15	MA3	576,2		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
16	MS1	547,8	Mercado Sur	Blanco	Agradable	X		X		N/D	N/D
17	MS2	567,8		Blanco	Agradable	X		X		N/D	N/D
18	MS3	550,6		Blanco	Agradable	X		X		N/D	N/D
19	MMA1	1026,7	Mercado Mayorista de Ambato	Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
20	MMA2	985,6		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
21	MMA3	673,2		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
22	MCC1	549,5	Mercado Cristóbal Colon	Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
23	MCC2	508,3		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D
24	MCC3	566,3		Blanco	Agradable		X		X	N/D	N/D

Anexo 1. Matriz de recolección de datos para muestras de queso fresco sin marca.

	UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO						
	FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA						
	CARRERA DE ALIMENTOS						
TEMA:	Análisis de la contaminación microbiana de patógenos alimentarios en quesos frescos de sin marca de los mercados de las zonas urbanas del cantón Ambato.						
Recolección de resultados de la cuantificación de <i>Escherichia coli</i> de muestras de queso fresco sin marca							
N° muestra	Fecha de análisis	Codificación	Procedencia	<i>Escherichia coli</i>			Observación
				Dilución	# ufc/petrifilm	# ufc/g	
1	11-04-23	MC0.1	Mercado Central	10 ⁻⁵	>250	Incontable	
2	11-04-23	MC0.2		10 ⁻⁵	>250	Incontable	
3	11-04-23	MC0.3		10 ⁻⁵	>250	Incontable	
4	18-04-23	MC7.4		10 ⁻⁵	2	2 x 10 ⁵	
5	18-04-23	MC7.5		10 ⁻⁵	2	2 x 10 ⁵	
6	18-04-23	MC7.6		10 ⁻⁵	2	2 x 10 ⁵	
7	25-04-23	MC15.7		10 ⁻⁵	1	1 x 10 ⁵	
8	25-04-23	MC15.8		10 ⁻⁵	1	1 x 10 ⁵	
9	25-04-23	MC15.9		10 ⁻⁵	1	1 x 10 ⁵	
10	18-04-23	MM0.1			10 ⁻⁵	8	8 x 10 ⁵

11	18-04-23	MM0.2	Mercado Modelo	10^{-5}	9	9×10^5	
12	18-04-23	MM0.3		10^{-5}	11	11×10^5	
13	25-04-23	MM7.4		10^{-5}	3	3×10^5	
14	25-04-23	MM7.5		10^{-5}	4	4×10^5	
15	25-04-23	MM7.6		10^{-5}	3	3×10^5	
16	02-05-23	MM15.7		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
17	02-05-23	MM15.8		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
18	02-05-23	MM15.9		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
19	09-05-23	MSB0.1		Mercado Simón Bolívar	10^{-5}	13	13×10^5
20	09-05-23	MSB0.2	10^{-5}		13	13×10^5	
21	09-05-23	MSB0.3	10^{-5}		12	12×10^5	
22	16-05-23	MSB7.4	10^{-5}		1	1×10^5	
23	16-05-23	MSB7.5	10^{-5}		2	2×10^5	
24	16-05-23	MSB7.6	10^{-5}		1	1×10^5	
25	23-05-23	MSB15.7	10^{-5}		$< 1 \times 10^5$	Incontable	
26	23-05-23	MSB15.8	10^{-5}		$< 1 \times 10^5$	Incontable	
27	23-05-23	MSB15.9	10^{-5}		$< 1 \times 10^5$	Incontable	
28	16-05-23	MU0.1		10^{-5}	5	5×10^5	

29	16-05-23	MU0.2	Mercado Urbina	10^{-5}	4	4×10^5	
30	16-05-23	MU0.3		10^{-5}	3	3×10^5	
31	23-05-23	MU7.4		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
32	23-05-23	MU7.5		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
33	23-05-23	MU7.6		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
34	06-06-23	MU15.7		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
35	06-06-23	MU15.8		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
36	06-06-23	MU15.9		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
37	22-05-23	MA0.1		Mercado América	10^{-5}	14	14×10^5
38	22-05-23	MA0.2	10^{-5}		11	11×10^5	
39	22-05-23	MA0.3	10^{-5}		14	14×10^5	
40	29-05-23	MA7.4	10^{-5}		21	21×10^5	
41	29-05-23	MA7.5	10^{-5}		22	22×10^5	
42	29-05-23	MA7.6	10^{-5}		17	17×10^5	
43	05-06-23	MA15.7	10^{-5}		>250	Incontable	
44	05-06-23	MA15.8	10^{-5}		>250	Incontable	
45	05-06-23	MA15.9	10^{-5}		>250	Incontable	
46	29-05-23	MS0.1	Mercado Sur	10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	

47	29-05-23	MS0.2		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
48	29-05-23	MS0.3		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
49	12-06-23	MS7.4		10^{-5}	36	36×10^5	
50	12-06-23	MS7.5		10^{-5}	24	24×10^5	
51	12-06-23	MS7.6		10^{-5}	28	28×10^5	
52	19-06-23	MS15.7		10^{-5}	13	13×10^5	
53	19-06-23	MS15.8		10^{-5}	14	14×10^5	
54	19-06-23	MS15.9		10^{-5}	13	13×10^5	
55	05-06-23	MMA0.1		10^{-5}	>250	Incontable	
56	05-06-23	MMA0.2		10^{-5}	>250	Incontable	
57	05-06-23	MMA0.3		10^{-5}	>250	Incontable	
58	12-06-23	MMA7.4	Mercado Mayorista de Ambato	10^{-5}	5	5×10^5	
59	12-06-23	MMA7.5		10^{-5}	6	6×10^5	
60	12-06-23	MMA7.6		10^{-5}	9	9×10^5	
61	19-06-23	MMA15.7		10^{-5}	5	5×10^5	
62	19-06-23	MMA15.8		10^{-5}	6	6×10^5	
63	19-06-23	MMA15.9		10^{-5}	5	5×10^5	
64	12-06-23	MCC0.1			10^{-5}	2	2×10^5
65	12-06-23	MCC0.2		10^{-5}	2	2×10^5	

66	12-06-23	MM0.3	Mercado Cristóbal Colon	10^{-5}	2	2×10^5	
67	19-06-23	MCC7.4		10^{-5}	1	1×10^5	
68	19-06-23	MCC7.5		10^{-5}	1	1×10^5	
69	19-06-23	MCC7.6		10^{-5}	1	1×10^5	
70	26-06-23	MCC15.7		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
71	26-06-23	MCC15.8		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	
72	26-06-23	MCC15.9		10^{-5}	$< 1 \times 10^5$	Incontable	

Anexo 2. Matriz de recolección de la cuantificación de *Escherichia coli* para muestras de queso fresco sin marca.

	UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO					
	FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA					
	CARRERA DE ALIMENTOS					
TEMA:	Análisis de la contaminación microbiana de patógenos alimentarios en quesos frescos de sin marca de los mercados de las zonas urbanas del cantón Ambato.					
Presencia o Ausencia de Salmonella spp. en muestras de queso fresco sin marca						
N° muestra	Fecha de análisis	Codificación	Procedencia	<i>Salmonella spp.</i>		Observación
				Positivo	Negativo	
1	11-04-23	MC0.1	Mercado Central		X	
2	11-04-23	MC0.2			X	
3	11-04-23	MC0.3			X	
4	18-04-23	MC7.4			X	
5	18-04-23	MC7.5			X	
6	18-04-23	MC7.6			X	
7	25-04-23	MC15.7			X	
8	25-04-23	MC15.8			X	
9	25-04-23	MC15.9			X	
10	18-04-23	MM0.1	Mercado Modelo		X	
11	18-04-23	MM0.2			X	

12	18-04-23	MM0.3			X	
13	25-04-23	MM7.4			X	
14	25-04-23	MM7.5			X	
15	25-04-23	MM7.6			X	
16		MM15.7			X	
17		MM15.8			X	
18		MM15.9			X	
19	09-05-23	MSB0.1		Mercado Simón Bolívar		X
20	09-05-23	MSB0.2			X	
21	09-05-23	MSB0.3			X	
22	16-05-23	MSB7.4			X	
23	16-05-23	MSB7.5			X	
24	16-05-23	MSB7.6			x	
25	23-05-23	MSB15.7			X	
26	23-05-23	MSB15.8			X	
27	23-05-23	MSB15.9			X	
28	16-05-23	MU0.1	Mercado Urbina		X	
29	16-05-23	MU0.2			X	
30	16-05-23	MU0.3			X	
31	23-05-23	MU7.4			X	

32	23-05-23	MU7.5			X	
33	23-05-23	MU7.6			X	
34	06-06-23	MU15.7			X	
35	06-06-23	MU15.8			X	
36	06-06-23	MU15.9			X	
37	22-05-23	MA0.1	Mercado América		X	
38	22-05-23	MA0.2			X	
39	22-05-23	MA0.3			X	
40	29-05-23	MA7.4			X	
41	29-05-23	MA7.5			X	
42	29-05-23	MA7.6			X	
43	05-06-23	MA15.7			X	
44	05-06-23	MA15.8			X	
45	05-06-23	MA15.9			X	
46	29-05-23	MS0.1	Mercado Sur		X	
47	29-05-23	MS0.2			X	
48	29-05-23	MS0.3			X	
49	12-06-23	MS7.4			X	
50	12-06-23	MS7.5			X	
51	12-06-23	MS7.6			X	

52	19-06-23	MS15.7			X	
53	19-06-23	MS15.8			X	
54	19-06-23	MS15.9			X	
55	05-06-23	MMA0.1	Mercado Mayorista de Ambato		X	
56	05-06-23	MMA0.2			X	
57	05-06-23	MMA0.3			X	
58	12-06-23	MMA7.4			X	
59	12-06-23	MMA7.5			X	
60	12-06-23	MMA7.6			X	
61	19-06-23	MMA15.7			X	
62	19-06-23	MMA15.8			X	
63	19-06-23	MMA15.9			X	
64	12-06-23	MCC0.1		Mercado Cristóbal Colon		X
65	12-06-23	MCC0.2			X	
66	12-06-23	MM0.3			X	
67	19-06-23	MCC7.4			X	
68	19-06-23	MCC7.5			X	
69	19-06-23	MCC7.6			X	
70	26-06-23	MCC15.7			X	
71	26-06-23	MCC15.8			X	

72	26-06-23	MCC15.9			X	
					X	

Anexo 3. Matriz para reportar la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. para muestras de queso fresco sin marca.

ANEXOS FOTOGRAFÍAS



Anexo 4. Recolección de las muestras Mercado MMA.



Anexo 5. Recolección de muestras MCC.



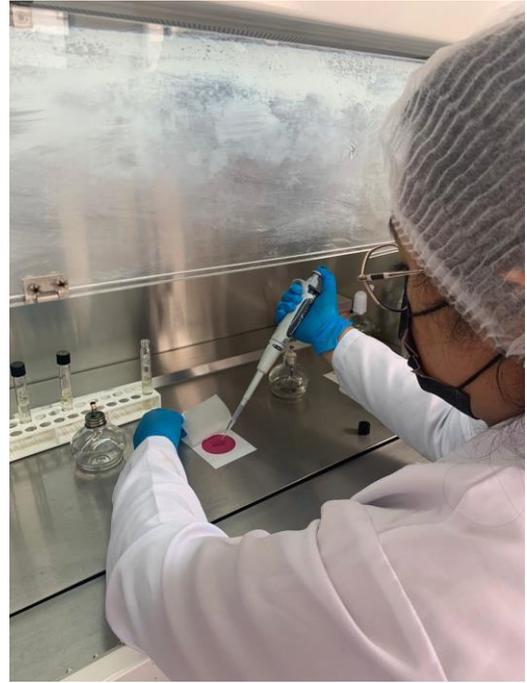
Anexo 6. Recolección de muestras MU.



Anexo 7. Recolección de muestras MS.



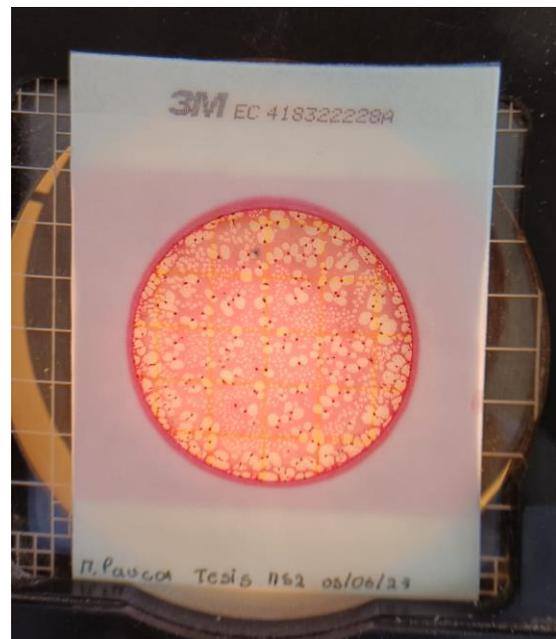
Anexo 8. Pesaje de la muestra.



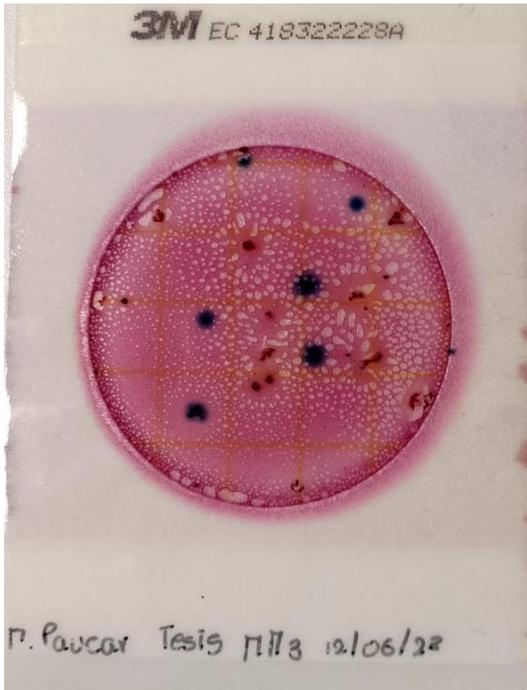
Anexo 9. Siembra de 1 ml de la muestra en placas petrifilm de *Escherichia coli*.



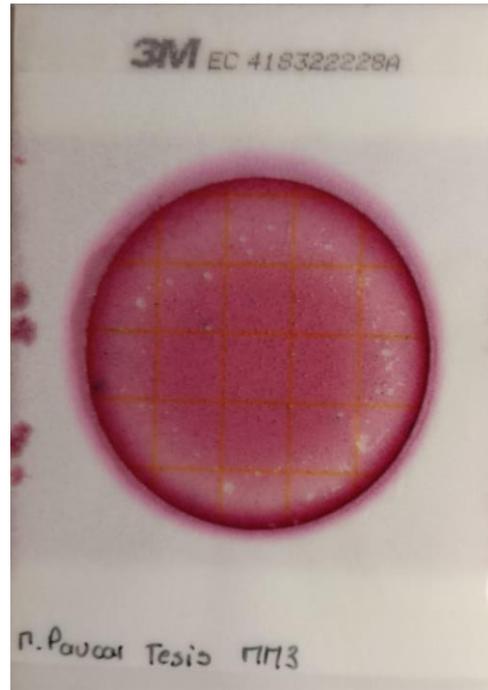
Anexo 10. Incubación de placas por 48h \pm 2h a 35 °C \pm 1 °C.



Anexo 11. Placas petrifilm con coliformes colonias rojas con gas.



Anexo 12. Placas petrifilm con *Escherichia coli* colonias azules.



Anexo 13. Placas petrifilm con altas concentraciones de *Escherichia coli*.



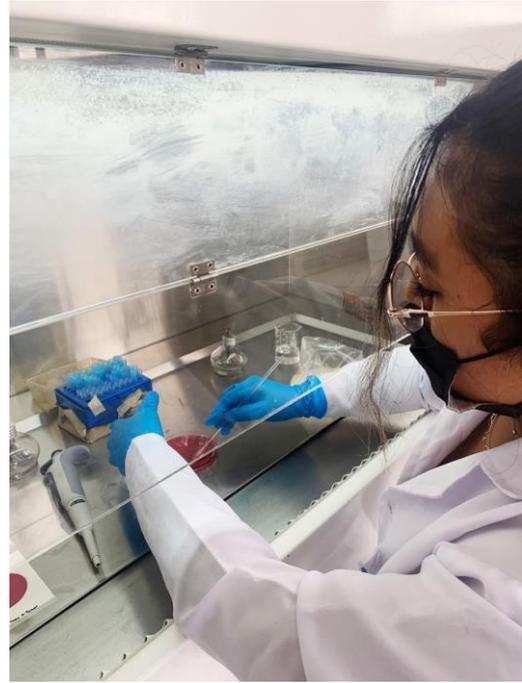
Anexo 14. Incubación de la muestra enriquecida a 37 °C por 16 ± 24 h (*Salmonella*).



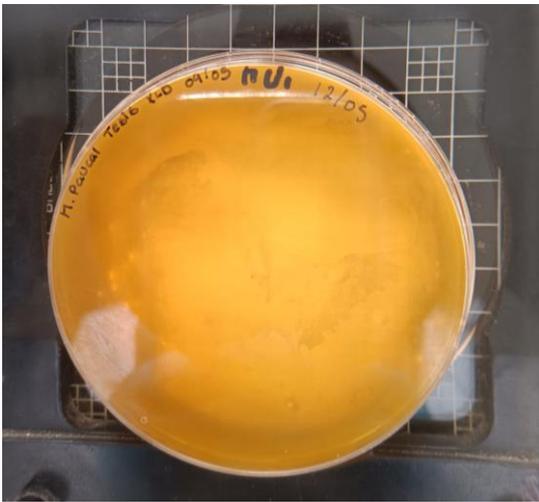
Anexo 15. Enriquecimiento de la muestra con caldo rappaport.



Anexo 16. Incubación de caldo rappaport
 $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 h.



Anexo 17. Siembra 0.1 ml de la muestra
enriquecida en placas agar XLD.



Anexo 18. Placas de Agar XLD, con ausencia
de *Salmonella*.



Anexo 19. Almacenamiento de los quesos.