## Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Esta licencia es la más restrictiva de las seis licencias principales Creative Commons, permitiendo a otras solo descargar sus obras y compartirlas con otras siempre y cuando den crédito, pero no pueden cambiarlas de forma alguna ni usarlas de forma comercial.

http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0

iThenticate

**CONSTANCIA DE REVISIÓN**

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud a la Tesis cuyo título es:

**"Calidad bacteriológica del queso fresco que se comercializa en el Distrito de Chincha Alta"**

presentado por:

**Edy Yonnina Huaroto Claudio.**

**Estudiante** del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**. El resultado obtenido es 14**%** por el cual se otorga el calificativo de: **APROBADO**, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Observaciones: Ninguna

Ica, 18 de septiembre del 2024

.....
**Dr. JUAN RAMON CANEPA ARCOS**
Director de unidad de investigación
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

# UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”

## VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

## Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**“Calidad bacteriológica del queso fresco que se comercializa en el Distrito de Chincha Alta”**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

Salud pública y conservación del medio ambiente

**INFORME FINAL DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**Autor:** Bach. Edy Yonnina Huaroto Claudio

**Asesor:** Mg. Agustin Guerrero Canelo.

**Ica, Perú**

**2025**

## DEDICATORIA

El trabajo de investigación va dedicado a Dios. A mi madre Alicia Claudio y hermana Lilia que siempre han sido mi sostén y apoyo incondicional, a mi pequeña hija Alba por ser la inspiración de mi vida para alcanzar mis metas.

## AGRADECIMIENTOS

A nuestra alma mater, a cada uno de los docentes que integra esta digna casa de estudios, por brindarnos los conocimientos necesarios durante nuestra formación profesional.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

**Dedicatoria**----------i

**Agradecimiento**----------ii

**Índice de tablas**----------iv

**Índices de figuras**----------v

**Resumen**----------vi

**Abstract**----------vii

**CUERPO DEL INFORME FINAL**

**I. INTRODUCCIÓN**----------1

**II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA**----------25

**2.1 Lugar de estudio y duración de la investigación**----------25

**2.2 Población y muestreo**----------25

**2.3 Recolección de los datos**----------25

**2.4 Procesamiento de los datos**----------27

**2.5 Diseño de la investigación**----------27

**2.6 Análisis estadístico**----------27

**III. RESULTADOS**----------28

**IV. DISCUSIÓN**----------31

**V. CONCLUSIONES**----------33

**VI. RECOMENDACIONES**----------34

**VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**----------35

**VIII. ANEXOS**----------49

## Índice de tablas

1. Valor nutricional de productos lácteos de vacuno----------1
2. Método para identificar Staphylococcus----------11
3. Primer para identificar toxinas estafilocócica----------11
4. Clasificación de Kauffmann – White para Salmonella----------19
5. Criterios sanitarios para quesos frescos----------28
6. Calidad bacteriológica del queso. Distrito de Chincha Alta, Provincia de Chincha. Departamento de Ica, 2023----------29

## Índice de gráfico

1. Calidad bacteriológica del queso. Distrito de Chincha Alta, Provincia de Chincha. Departamento de Ica, 2023----------30
2. Coliformes y *Escherichia coli* del queso. Distrito de Chincha Alta, Provincia de Chincha. Departamento de Ica, 2023----------30

**Resumen**

**Introducción:** Para evaluar la calidad bacteriológica del queso fresco se cuenta con NTS N° 071 – 2008 – DIGESA/MINSA, referencia como valores máximos permitidos de *Coliformes* (5 x $10^3$ ufc/g), *Escherichia coli* (10 ufc/g), *Staphylococcus aureus* ($10^2$ ufc/g), Listeria *monocytogenes* y *Salmonela spp.* (ausencia/25 g). **Objetivo:** Determinar la calidad bacteriológica del queso fresco que se comercializa en el Distrito de Chincha. **Método:** Se muestrearon 5 puestos de ventas de quesos del mercado de Abasto y 15 puestos de La parada. De cada puesto se compraron 100 g de queso, los cuales se remitieron al Laboratorio de Investigación de Microbiología. Para el conteo de colonias bacterianas se realizaron diluciones de la muestra hasta $10^{-3}$, luego se sembraron 1 mL de cada dilución en agar Mac conkey y se incubó a 37 °C/24 h para Coliformes y a 44,5 °C para *E. coli*; para *S. aureus* de sembró en agar Baird Parker y se incubó a 37 °C/ 24 h. Para las detecciones de *L. monocytogenes*, se sembró en agar Listeria y para *Salmonella spp*. se trasplantó en agares (Mac Conkey y Xilosa Lisina Desoxicolato). **Resultados:** El 20/20 (100 %) de las muestras de queso fresco con resultados superiores a los máximos permitidos, debido a la contaminación por *S. aureus* (100 %), Coliformes (20 %) y *E. coli* (20 %). **Conclusión:** La calidad bacteriológica del queso fresco que se comercializa en los mercados de Abasto y La parada no son aptos para el consumo humano.

**Palabras clave:** Calidad bacteriológica, queso fresco, valores máximos permitidos.

**Abstract**

**Introduction:** To evaluate the bacteriological quality of fresh cheese, NTS No. 071 – 2008 – DIGESA/MINSA is used, which establishes the maximum permitted levels for Coliforms (5 x $10^3$ cfu/g), Escherichia coli (10 cfu/g), Staphylococcus aureus ($10^2$ cfu/g), Listeria monocytogenes, and Salmonella spp. (absence/25 g). **Objective:** To determine the bacteriological quality of fresh cheese sold in the Chincha District. **Method:** Five cheese stalls in the Abasto market and 15 stalls in La Parada were sampled. 100 g of cheese were purchased from each stall and sent to the Microbiology Research Laboratory. For bacterial colony counting, sample dilutions were made up to 10-3, then 1 mL of each dilution was plated on Mac Conkey agar and incubated at 37 °C/24 h for Coliforms and at 44.5 °C for E. coli; for S. aureus it was plated on Baird Parker agar and incubated at 37 °C/24 h. For L. monocytogenes detection, it was plated on Listeria agar and for Salmonella spp. it was transplanted on agars (Mac Conkey and Xylose Lysine Deoxycholate). **Results:** 20/20 (100%) of the fresh cheese samples had results higher than the maximum allowed, due to contamination by S. aureus (100%), Coliforms (20%) and E. coli (20%). **Conclusion:** The bacteriological quality of the fresh cheese sold in the Abasto and La Parada markets is not suitable for human consumption.

**Keywords:** Bacteriological quality, fresh cheese, maximum permitted values.

# I. INTRODUCCIÓN

"La leche y sus derivados son alimentos de alto riesgo por la zoonosis y se debe pasteurizar para neutralizar patógenos" [(1)]. "El queso contiene principalmente caseína, que se forma cuando la leche se coagula" [(2)]. "Para el Codex Alimentarius es un producto sólido o semisólido, madurado o fresco, obtenido por coagulación (total o parcial) de la leche por medio de enzimas proteolíticas del cuajo o de otros coagulantes como el ácido láctico y calcio" [(3)].

"El queso preserva el valor nutritivo de la mayoría de los componentes de la leche como las proteínas (aminoácidos esenciales), grasas, minerales (calcio, hierro y fósforo) y vitaminas" [(4)]. "En la tabla 1 se compara la leche y el queso" [(5 y 6)].

**Tabla 1. Valor nutricional de productos lácteos de vacuno**

| Características | Leche entera[a] | Queso fresco[b] |
|---|---|---|
| Humedad | 87 – 89 % | 30 – 50 % |
| Grasa | 3 – 4 g | 20 – 35 g |
| Proteína | 3 – 4 g | 15 – 30 g |
| Lactosa | 4 – 5 g | 1 – 3 g |
| Calcio | 120 mg | 500 – 1000 mg |
| Fosforo | 90 mg | 300 – 600 mg |
| Sodio | 40 – 50 mg | 400 – 1000 mg |
| Vitamina A, D, B2, B12 | Menor cantidad | Mayor cantidad |
| pH | 06,70 | 06,10 |
| Valor nutritivo (Kcal/100 g) | 62,00 – 66,00 | 255 ± 37 |

[a] Alais, 1985 [(5)]
[b] Van Hekken y Farkye, 2003 [(6)].

"Se clasifican según el origen de la leche (vaca, cabra u oveja) y el método de cuajado (enzimático o ácido)" [(7)].

"La Norma Técnica Peruana (NTP) específica que el queso fresco es un queso tierno que se obtiene separando el suero luego de la coagulación enzimática de la leche pasteurizada (entera, desnatada o semidesnatada) sin madurar" [(8)]. "El Codex refiere que aquellos quesos sin madurar se le puede considerar como (queso fresco)" [(9)].

"En América los quesos frescos tienen diferentes nomenclaturas: en Perú (queso fresco)" [(10)], "Brasil (queso Minas)" [(11)], "México (queso fresco mexicano)" [(12)]. "Europa (queso fresco)" [(13)]. "En Asia: Kesong Puti" [(14)]. En Egipto y África: Domiati [(15)].

“El queso se clasifica comúnmente en función de su maduración y atributos, como la textura, el sabor y el tipo de leche utilizada. Clasificación básica de los quesos según su maduración [16]:

**Quesos Frescos**

“Estos quesos se consumen poco después de su elaboración (6 días) y no pasan por un proceso significativo de maduración. Tienen una textura suave y generalmente un sabor más suave y lácteo. Ejemplos incluyen el queso cottage, el queso crema y el queso ricota” [16].

**Quesos de Pasta Blanda**

“Estos quesos son semi – madurados (40 días) y generalmente con textura cremosa y suave. Son madurados durante un período corto, lo que permite que el interior del queso se suavice y desarrolle sabores más pronunciados (Camembert)” [16].

**Quesos de Pasta Semidura**

“Estos quesos han sido madurados durante un tiempo moderado (mayor de 70 días), lo que les otorga firmeza, pero todavía algo cremosa. Sus sabores son más pronunciados que los quesos frescos y de pasta blanda (quesos Gouda y Edam)” [16].

**Quesos de Pasta Dura**

“Estos quesos han sido madurados durante largo período, son de textura firme y granulada. Sus sabores son más intensos y a menudo desarrollan cristales de proteína (quesos Pecorino y Manchego” [16].

**Quesos Azules**

“Estos quesos son madurados y luego se inyectan con cultivos de hongos penicillium, lo que crea vetas de color azul verdoso en todo el queso. Son cremosos y picante (quesos Gorgonzola y Stilton” [16].

**Quesos Añejos o Extra Añejos**

“Estos quesos han sido madurados durante un período muy largo, a veces varios años. Esto intensifica enormemente su sabor y textura, haciéndolos bastante robustos y a menudo crujientes debido a los cristales de proteína formados. Ejemplos incluyen algunos tipos de queso Cheddar añejo y ciertos quesos de montaña” [16].

“En el Perú el consumo per cápita de queso fresco es de 3,8 Kg/persona/año, México (2,8 kg) [17], España (2,2 kg)” [18].

“Es frecuentemente consumido por la población para nutrirlo debido a que contiene (17,5 % proteína, 20 % de grasa y 3 % de carbohidratos)” [19]. “Los niños consumen 2 porciones de queso (una tajada mediana de 49 g) y 2 – 3 desde 6 – $\geq$ 60 años” [20]. “Se indica que 30 g de queso fresco aporta de 4 – 7 g de grasa y 7 g de proteína” [21]. “Además, contiene minerales como el calcio” [22].

“Las propiedades físicas del queso pueden afectarse por enzimas del cuajo o microorganismos que producen proteólisis y lipólisis” [23]. “Bacterias lácticas dan el sabor y neutralizan a patógenos transmitidos en la fabricación del queso fresco” [24].

“El queso fresco no pasteurizado puede aportar diversos agentes patógenos. La FAO recomienda aplicar el control de higiene y calidad durante toda la cadena alimentaria para evitarlos” [25].

“En América tenemos una prevalencia aproximada de patógenos*: Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) de 43, 71 %), *Escherichia coli* (*E. coli*) de 18,51 % y *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) de 16,26 %” [26]. “Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) son producidas por la ingesta de alimentos o bebidas contaminadas con agentes químicos o microbiológicos en cantidades superiores a los mínimos permisibles que afectan la salud del consumidor” [27]. “Las intoxicaciones alimentarias, son causadas por toxinas bacterianas que se adquieren a través del consumo de los alimentos” [28], “principalmente *S aureus* y *L. monocytogenes*” [29].

“El consumidor no considera un alimento que al ser consumido no sea inocuo. La calidad microbiológica se determina con los criterios microbiológicos, basados en la ausencia o presencia, o el número de microorganismos, y/o cantidad de sus toxinas/metabolitos, por unidad (es) de masa, volumen, área o lote establecidos en la normativa sanitaria de cada país” [30].

“Según la Norma Técnica Sanitaria (NTS) N° 118 – 2015 de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA), el queso fresco pertenece al grupo 2 de alimento de alto riesgo que requieren cadena de frio (refrigeración o congelación) para no causar una ETA” [31].

“La falta de refrigeración permite la proliferación de *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.*, Brucella, Mycobacterium, *Clostridium botulinum*” [32]. “Se estima que cada año, el 10 % se enferman por consumo de alimentos no inocuos” [33].

“Análisis de Peligros y Puntos de Críticos de Control (HACCP), las buenas prácticas de manufacturas (BPM) y Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES) permiten asegurar la inocuidad de los quesos” [34].

“El Plan del HACCP, surgió en el año 1971 cuando una compañía norteamericana junto con la Administración Nacional de Aeronáutica y el Espacio (NASA) lo diseñaron para garantizar alimentos inocuos, siendo adoptadas por empresas de alimentos a mediado de 1980” [1].

“La NTS N° 071 – DIGESA – MINSA desde el 27 de agosto del 2008 hace referencia como valores máximos permitidos de *Coliformes* ($5 \times 10^3$/g), *E. coli* (10/g), *S. aureus* ($10^2$/g), *L. monocytogenes* y *Salmonela spp.* (ausencia/25 g)” [35].

Es necesario indicadores mediante las concentraciones de bacterias coliformes, sin embargo, la detección de patógenos también es importante como *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* y *Salmonela spp.*” [35].

## 1.1 Marco teórico

### 1.1.1 Coliformes

"Las bacterias coliformes posibilita otros patógenos como virus, bacterias, protozoos y fases enquistadas de metazoarios" [36].

"Coliformes (*E. coli*, Citrobacter, Enterobacter y Klebsiella), son bacterias bacilares gram negativas que proliferan de 35 a 37 ºC" [37].

**Coliformes termo tolerantes o coliformes fecales**

"Coliformes termotolerantes (*E. coli*, *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae*) son un subgrupo de los coliformes totales, capaces de fermentar la lactosa a 44,5 °C. Aproximadamente el 95 % de los coliformes presentes en heces fecales, están formados por *E. coli*" [37]. "Los coliformes fecales se denominan termotolerantes soportan temperaturas más altas. Este nombre está ganando cada vez más aceptación porque sería una forma más adecuada de identificar este subgrupo. La capacidad de los coliformes fecales para multiplicarse fuera de los intestinos de los animales homeotérmicos se ve favorecida por la presencia de condiciones ambientales adecuadas en términos de materia orgánica, pH y humedad" [37].

***Escherichia coli***

"Son bacterias Gram negativos, móviles por flagelos peritricos o inmóviles, fermentan la lactosa liberando ácido y gas. Se reproducen de 44 – 45 °C en medios complejos. Algunas cepas pueden desarrollarse a 37 °C. pero no a 44 – 45 °C. y algunas no liberan gas. No produce oxidasa ni hidroliza la urea. Habita normalmente en el intestino del hombre y desempeña un importante papel en la fisiología del intestino" [38].

"Por ser un habitante regular y normal del intestino se usa desde hace un siglo como el mejor indicador de contaminación con materia fecal de los alimentos. Se halla en alimentos que han sufrido contaminación reciente, ya sea de seres humanos, operaciones agrícolas, animales y de aves salvajes" [38].

"La vía de infección primaria es la ingestión, y puede ocasionar gastroenteritis, diarreas y vómitos intensos, deshidratación. Frecuentemente es mortal si no se trata adecuadamente" [38].

"La diarrea es un problema de salud pública causada por *E. coli*, a pesar que en las últimas reuniones internacionales en microbiología se reconoce y se define a *E.coli* Enteropatógena como aquella bacteria que posee dos genes específicos: el de la intimina (eae) y el de la fimbria (bfp), dejando a la serotipificación" [39].

**E. coli enterotoxigénica (ETEC)**

"Se adhiere a la mucosa del intestino delgado, no la invade y elabora toxinas que producen poca inflamación y diarrea" [(40)].

**E. coli enteroinvasiva (EIEC)**

"Provoca disentería (trastorno inflamatorio gastrointestinal (gastroenteritis), especialmente del colon, que produce diarrea grave que contiene moco o sangre en las heces. Si no se trata se pierde calcio ocasionando arterioesclerosis en algunos casos y puede ser mortal [(41)].

***E. coli* enteropatógena**

"Produce la lesión conocida como lesión adherencia/destrucción (eliminación) de células epiteliales" [(42)].

***Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH):**

"Es producida por *E. coli* que no fermenta el sorbitol y posee un fago, donde se encuentra codificada una exotoxina semejante a Shiga, conocida también como verotoxina (SLT), es semejante en estructura y en actividad a la toxina Shiga producida por *Shigella dysenteriae* y es neutralizada por el mismo suero que se usa contra la toxina Shiga. Hay dos tipos, conocidas como SLT1 y SLT2. Ambas son tóxicas, aunque antigénicamente distintas. Se encuentra en los intestinos del ganado saludable, cabras, ciervos y ovejas. Se obtiene con la hamburguesas o carne picada; también el nadar o beber agua contaminada, contacto familiar y en centros de atención a niños o institucionales. Los síntomas: colitis hemorrágicas y fatiga que puede ser grave y afectar los riñones" [(43)].

### 2.1.2 *Staphylococcus aureus*

"*S. aureus* es un patógeno que coloniza e infecta a varios huéspedes, incluidos animales productores de alimentos y humanos" [(44)]. "En animales, especialmente en rumiantes lecheros como bovinos, búfalos, cabras y ovejas, se informa comúnmente como causa de mastitis clínica y subclínica" [(45)].

"*S. aureus* también es una causa común de intoxicación alimentaria por enterotoxinas estafilocócicas (SE) codificadas por sus genes de enterotoxinas" [(46)]. "Hasta ahora se han informado al menos 27 SE" [(47)] "y su producción está influenciada por varios factores, incluida la temperatura, la humedad y, lo más importante, la densidad bacteriana, que debe ser superior a $10^5$ unidades formadoras de colonias/mL en la leche cruda para que se formen enterotoxinas" [(48)]. "Una vez que se alcanzan cifras superiores a este umbral, se estimula la producción de toxinas" [(49)].

“La intoxicación alimentaria estafilocócica (SFP) ocurre después del consumo de alimentos que contienen cantidades suficientes de uno (o más) SE preformados” [50], “incluso cuando están presentes en una dosis muy baja (<1 μg)” [51].

“Los síntomas de la SFP tienen una aparición rápida (2 a 8 h) y comprenden náuseas, vómitos violentos y calambres abdominales, con o sin diarrea” [52]. “Suele ser una enfermedad autolimitada y se resuelve en 24 a 48 h. Sin embargo, en niños, ancianos y personas con morbilidades existentes, puede llevar a la hospitalización” [53]. “Entre el 15 % y el 80 % de las cepas de *S. aureus* aisladas de diferentes alimentos pueden producir SE” [54].

“La mayoría de los SFP es por el alimento contaminado durante la cosecha, procesamiento, transporte, almacenamiento, cocción o manipulación, así como de métodos de enfriamiento inadecuados, que promueven crecimiento de estafilococos y producción de toxinas” [55].

“Aunque las cepas humanas de *S. aureus* son una causa común de SFP, los animales portadores o infectados por *S. aureus* también se reconocen como una fuente importante de contaminación con *S. aureus* enterotoxigénico” [56], “por ejemplo, en la leche cruda, queso de leche cruda y productos cárnicos crudos y procesados” [57]. “Incluso si el organismo está inactivado y no puede aislarse de los alimentos, una vez que se forman los SE, requieren ebullición prolongada o esterilización en autoclave para disminuir gradualmente su potencia porque son termoestables” [58].

“La detección de SE puede realizarse mediante inmunoensayos, inmunodifusión, ensayos radioinmunes, aglutinación de látex” [59] “y ensayos de difusión en doble gel” [60]; “sin embargo, los kits de diagnóstico disponibles comercialmente no cubren toda la gama de las SE” [61].

“Se han desarrollado ensayos para la detección de genes de enterotoxina de *S. aureus,* ya sea directamente a partir de muestras de alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)” [62] “y ensayos de amplificación mediada por bucle (LAMP)” [63], “o después de un paso de cultivo para aumentar la concentración bacteriana. Se han notificado brotes de SFP en todo el mundo, pero los datos de incidencia específicos son muy limitados y solo hay informes disponibles de algunas subregiones” [64]. “La disponibilidad de datos es particularmente limitada en los países de ingresos bajos y medianos por varias razones: muchas personas afectadas no buscan atención médica, lo que lleva a una disponibilidad limitada de muestras clínicas, y hay una falta de herramientas de vigilancia de rutina” [65].

“En Japón, un solo brote provocó más de 14 000 casos y una muerte en el verano del 2000 debido al consumo de productos pasteurizados que contenían pequeñas cantidades de SE, lo que ilustra la escala potencial de los brotes de SFP” [66].

"*S. aureus* ocupa el tercer lugar entre los agentes causantes más críticos de ETA en todo el mundo" [67]. "*S. aureus* enterotoxigénico, pueden estar en quesos sin pasteurizar" [68].

"La SFP resulta del consumo de alimentos contaminados con SE. Estas toxinas son proteínas extracelulares solubles en agua con composición y actividad biológica similares, pero difieren en sus propiedades antigénicas" [69].

"Las SE están clasificadas en dos categorías, clásicas y no clásicas, y abarcan 23 tipos" [70]. "Las enterotoxinas de tipo clásico, que incluyen los serotipos (A – E) que representan aproximadamente el 95 % de los casos de intoxicación alimentaria inducida por *S. aureus*, son responsables de las intoxicaciones inducidas por náuseas" [71]. "Las enterotoxinas no clásicas, conocidas como enterotoxinas (G – R y U), exhiben una menor estabilidad y no causan náuseas" [72].

"Calentar los alimentos es insuficiente para mitigar los efectos de las enterotoxinas, ya que las toxinas permanecen estables a pesar de la muerte de las bacterias a altas temperaturas" [73].

"La enterotoxina A conserva su actividad biológica durante 28 min a 121 °C, y las enterotoxinas exhiben resistencia a diversos factores ambientales (como pH bajo, congelación y sequedad) y enzimas proteolíticas" [74].

"La cantidad mínima de enterotoxinas requerida para inducir la enfermedad oscila entre 20 y 100 nanogramos, y los síntomas de intoxicación por estafilococos se manifiestan entre 2 y 6 h después del consumo de alimentos contaminados" [75].

"La gravedad de los síntomas por alimento contaminado depende de varios factores. Estos incluyen la cantidad de alimentos contaminados consumidos, la concentración de toxinas y la salud general del individuo" [76].

"El uso inadecuado de antibióticos tanto en medicina veterinaria como humana es una preocupación común que puede contribuir al desarrollo de microorganismos multirresistentes, lo que plantea un importante desafío para la salud pública" [77].

"Estudios anteriores han informado tasas variables de genes SE en la leche y los productos lácteos a nivel mundial. Un metanálisis de 21 estudios encontró una prevalencia de genes SE agrupados del 39,31 % (IC del 95 %: 25,99–53,44 %), con las tasas más altas para sec (16,27 %), seguido de mar (9,11 %) y ver (4,31 %)" [78].

"La prevalencia promedio estimada de *S. aureus* enterotoxigénico en los alimentos iraníes fue del 53,7 % (IC del 95 %: 41,4-65,6 %), siendo el mar y el seg los tipos de SE clásico y no clásico más comunes" [79].

“Entre los genes SE clásicos en los productos lácteos iraníes, el mar y el sed predominaron con una prevalencia del 10 % y el 7,5 %, mientras que seb, sec y see estuvieron ausentes” [80]. “El gen sea fue más prevalente que el seb en muestras de leche cruda de Irán en 19 aislados versus dos aislados” [81].

“En la leche cruda iraní, el mar, el seb y el sed fueron los SE clásicos más destacados” [82]. “Entre los SE no clásicos, seg mostró la frecuencia más alta” (41,9 %), seguido de sei y seh” [83].

“En un estudio observacional demuestra que las cepas de *S. aureus* adaptadas a los humanos tienen una mayor frecuencia de resistencia a los antibióticos en comparación con las cepas adaptadas al ganado aisladas de granjas lecheras que elaboran queso de granja” [84].

“*S. aureus* es una de las principales causas de infección intramamaria bovina en las granjas lecheras. Las glándulas mamarias infectadas son la principal fuente de transmisión contagiosa de mastitis por *S. aureus* entre cuartos y vacas durante el ordeño. Otros lugares del cuerpo y entornos habitacionales también pueden actuar como reservorios y pueden estar asociados con infecciones intramamarias esporádicas o incidentales” [84].

“Los trabajadores agrícolas son otra fuente potencial de *S. aureus* en las granjas lecheras, está comúnmente presente en la parte anterior de las fosas nasales de aproximadamente el 30 % de la población humana y causa intoxicación alimentaria, infecciones de la piel, bacteriemia, endocarditis y otras enfermedades en humanos” [85].

“*S. aureus* también es un patógeno de prioridad 2 en la lista mundial de bacterias resistentes a los antibióticos de la Organización Mundial de la Salud (OMS)” [86]. “Las infecciones por estafilococos se definen como anfixenosis, infecciones que se transmiten en ambas direcciones, es decir, de animales a humanos y viceversa” [87].

“Se han utilizado otros términos para describir la direccionalidad de la transmisión (antropozoonosis y zooantroponosis); sin embargo, el comité mixto OMS/FAO de expertos en zoonosis recomendó que las zoonosis sean “enfermedades e infecciones que se transmiten naturalmente entre animales vertebrados” [88].

“A nivel mundial, el uso de antimicrobianos en las granjas lecheras se atribuye al control de la mastitis” [89]. “Una excepción son las granjas lecheras orgánicas de EE. UU. Donde está prohibido y los animales que reciben tratamientos con antibióticos deben ser retirados permanentemente de la producción orgánica” [89].

“El uso de antibióticos crea una presión selectiva tanto en la medicina humana como en la veterinaria” [90].

“La propagación de cepas de *S. aureus* con resistencia antimicrobiana (RAM) entre el ganado y los humanos subraya la necesidad de un enfoque de Una sola Salud, con varios estudios que indican el potencial zoonótico de ciertos linajes de *S. aureus*” [(91)].

“Desde la domesticación del ganado, la proximidad de los humanos y las vacas o el consumo de leche cruda y productos lácteos han aumentado el riesgo de propagación de *S. aureus*” [(92)]. “Esto requiere un seguimiento continuo de la diversidad genética de *S. aureus* en la interfaz humano – animal para informar posibles eventos de contagio. La tipificación de secuencias multilocus (MLST) ha avanzado enormemente en nuestra comprensión de la estructura poblacional de las cepas de *S. aureus* y su epidemiología y especificidad del huésped” [(93)].

“El queso artesanal se produce en parte a mano, en pequeños lotes, utilizando métodos tradicionales. Los quesos de granja se elaboran en la misma granja donde se crían y ordeñan los animales que suministran la leche” [(94)].

“Los sistemas de producción de queso en granjas pueden ser especialmente únicos porque los trabajadores agrícolas pueden participar en todos los segmentos desde el manejo de animales y el ordeño. Pueden ser una fuente de contaminación de la leche por *S. aureus* durante la cosecha o la producción de queso” [(94)].

“Existen datos de vigilancia limitados sobre la diversidad de cepas de *S. aureus* y los perfiles de aislamientos de trabajadores agrícolas y ganado en granjas lecheras que producen y venden queso artesanal o de granja en los Estados Unidos” [(95)]. “Esta falta de información obstaculiza la capacidad de implementar eficazmente el enfoque de Una sola Salud” [(96)].

“El queso Minas Frescal (MFC) es el más consumidos en Brasil. Se obtiene por coagulación enzimática de la leche utilizando enzimas coagulantes, alta humedad y actividad del agua” [(97)]. “Debido al procesamiento simple, la ausencia de requisitos de maduración y aceptación del consumidor, la producción de MFC es muy frecuente” [(98)].

“Cuando se produce los MFC clandestinamente, sin inspección sanitaria, potencialmente en condiciones higiénicas insatisfactorias y a partir de leche cruda, puede ser un vehículo para varios patógenos transmitidos por los alimentos, exponiendo a los consumidores al riesgo de ETAs” [(99)].

“Dentro del grupo de bacterias responsables de brotes de ETAs, se puede destacar *S. aureus* como causa potencial de contaminación en varios alimentos” [(99)].

“Los estafilococos en los alimentos procesados, especialmente los coagulasa positivos, pueden ser indicativos de fallas de higiene/sanidad en la manipulación” [(100)]. “*Staphylococcus spp*. se identifican más comúnmente como microorganismos causantes de mastitis” [(101)].

“Ciertas especies de Staphylococcus pueden producir SE que comprometen la seguridad alimentaria, exponiendo al consumidor al riesgo de intoxicación, incluso después de eliminar formas vegetativas de microorganismos mediante pasteurización” [(102)]. “Se trata de proteínas extracelulares de bajo peso molecular” [(103)]. “La más reciente legislación brasileña para el control de la calidad microbiológica de los alimentos ya determina la cuantificación de enterotoxinas estafilocócicas en relación con los recuentos de *Staphylococcus spp*.” [(104)].

“Dada la importancia del Staphylococcus coagulasa positivo (CPS) y el procesamiento tecnológico de los quesos, es importante determinar los recuentos de CPS, las especies de CPS más comunes en MFC, su potencial toxigénico por enfoques moleculares, el potencial de deterioro bajo condiciones de temperatura de almacenamiento del queso (mesófilas y psicrotróficas) y susceptibilidad a los antimicrobianos de aislados de *S. aureus* potencialmente enterotoxigénicos para respaldar los programas de mitigación de riesgos” [(105)].

“Para el conteo de CPS no se requirió la aprobación de un Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales ni de una Junta de Revisión Institucional. Se recolectaron veintiún muestras de MFC durante eventos comerciales formales (ferias, mercados abiertos), Araguaína, estado de Tocantins, norte de Brasil, entre abril y junio de 2021. Como el producto se producía y vendía de manera informal, no fue posible determinar la procedencia de las muestras. Es posible que algunas muestras procedieran de los estados de Pará, Tocantins y Maranhão, norte y noreste de Brasil. Las muestras fueron refrigeradas en su embalaje original y evaluadas inmediatamente en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos (LabMA) de la Universidad Federal de Tocantins Norte (UFNT). El período de recolección y análisis no superó las 3 h” [(105)].

“Los recuentos de CPS se realizaron según las recomendaciones de ISO 6888–1:1999/Amd 1:2003 (ISO, 2003) en agar Baird – Parker (Kasvi, Laboratorios Conda, España)” [(106)]. “La prueba de producción de enzima coagulasa propuesta por Costa et al (2011)” [(107)], “en todos los aislados de una placa del duplicado utilizado en los recuentos. La placa utilizada tuvo al menos 25 aislamientos, según lo recomendado por el método ISO. Las colonias positivas en la prueba de coagulasa (n = 428) fueron purificadas mediante repeticiones sucesivas en agar recuento en placa (PCA; Kasvi), durante 24 h a 35 ºC. Luego de obtener los aislados puros en placas, se realizaron pruebas de catalasa y fijación térmica de las colonias en portaobjetos, así como tinción de Gram. Aislados coagulasa y catalasa positivos que mostraron características morfotintoriales del género *Staphylococcus spp*. (n = 355) procedieron a diferenciarse según bioquímicas” [(105)].

“Se analizó la capacidad hemolítica de los aislados mediante inoculación en agar sangre ovina al 5 %; capacidad fermentativa de los carbohidratos maltosa, trehalosa y manitol; y capacidad

productora de acetoína (Voges Proskauer), según un modelo propuesto por Costa et al. (2010) para la diferenciación de especies de CPS, interpretación de resultados en la Tabla 1" [108].

**"Tabla 2. Método para identificar Staphylococcus" [108]**

| Bioquímica | S. *aureus* | *S. intermedius* | *S. Hyicus* | *S. delphini* | *S. coagulans* |
|---|---|---|---|---|---|
| Hemolisis | + | d | - | + | + |
| Acetoina VP | + | - | - | - | + |
| Manitol | + | d | - | + | d |
| Maltosa | + | w | - | nd | - |
| Trehalosa | + | + | + | - | - |

**nd = No determinado; d = menos del 11% al 89% de cepas positivas; w = reacciones positivas débiles; VP = Voges Proskauer.**

"Los aislados positivos para ciertas especies de CPS fueron sometidos según Ribeiro Júnior et al. (2016)" [109] "y posterior PCR para genes que codifican la síntesis de toxinas exfoliativas A y B (eta y etb); toxina – 1 del síndrome de shock tóxico (TSST – 1; tst); y toxinas de estafilococos. Se realizaron dos reacciones múltiples utilizando los cebadores de PCR descritos por Mehrotra et al. (2000) con condiciones de amplificación modificadas según la Tabla 2" [110].

**"Tabla 3. Primer para identificar toxinas estafilocócicas" [110]**

| Genes | Primer | bp | Amplificación |
|---|---|---|---|
| tst | ACCCCTGTTCCCTTATCATC<br>TTTTCAGTATTTGTAACGCC | 326 | 94°C, 5 min<br>35 × (92°C, 2 min; 57°C, 2 min; 72°C, 1 min) |
| eta | GCAGGTGTTGATTTAGCATT<br>AGATGTCCCTATTTTTGCTG | 93 | 72 °C, 7 min |
| etb | ACAAGCAAAAGAATACAGCG<br>GTTTTTGGCTGCTTCTCTTG | 226 | |
| sea | ACCCCTGTTCCCTTATCATC<br>TTTTCAGTATTTGTAACGCC | 102 | 95°C, 2 min<br>35 × (92°C, 1 min; 72 °C, 2 min; 72°C, 1 min) |
| seb | GCAGGTGTTGATTTAGCATT<br>AGATGTCCCTATTTTTGCTG | 164 | 72°C, 5 min |
| Sec | ACAAGCAAAAGAATACAGCG<br>GTTTTTGGCTGCTTCTCTTG | 451 | |
| sed | ACCCCTGTTCCCTTATCATC<br>TTTTCAGTATTTGTAACGCC | 278 | |
| See | GCAGGTGTTGATTTAGCATT<br>CTTTTTTTTCTTCGGTCAATC | 209 | |
| femA | AAAAAAGCACATAACAAGCG<br>GATAAAGAAGAAACCAGCAG | 132 | 95°C, 10 min<br>40 × (94°C, 1 min; 54°C, 1 min; 72°C, 1 min)<br>72°C, 10 min |
| MecA | ACTGCTATCCACCCTCAAAC<br>CTGGTGAAGTTGTAATCTGG | 163 | 95°C, 5 min<br>35 × (95°C, 1 min; 52°C, 30 s; 72°C, 45 s)<br>72°C, 5 min |

"Todos los aislados caracterizados bioquímicamente como *S. aureus* se confirmaron mediante PCR específica de especie (femA). Cada ensayo de PCR se combinó con un control positivo (*S. aureus* ATTCC 25923) y negativo (agua ultrapura)" [105].

“La PCR: aproximadamente 50 ng de ADN molde, 100 nM de cada dNTP, 2,5 µL de tampón 10X, 75 mmol/L de MgCl2, 20 pmol/L de cada cebador, 2,5 U de ADN polimerasa Platinum Taq (Invitrogen, CA) y agua ultrapura en cantidad suficiente para 25 µL.” [105].

**“**Para evaluar la capacidad proteolítica, las colonias fueron inoculadas en agar leche (Acumedia, Baltimore), suplementado en proporción 9:1 con solución de leche en polvo desnatada reconstituida al 10 % durante 48 h a 35 °C, para evaluación del deterioro en condiciones de temperatura para mesófilas y, por duplicado, a 7 °C durante 10 d para verificar la proteólisis en condiciones psicrotróficas (Ribeiro Júnior et al., 2018). Se formó un halo translúcido, que se consideró indicativo de actividad proteolítica” [111].

“Para verificar la actividad lipolítica, las bacterias fueron inoculadas en agar tributirina (Himedia, Mumbai, India) suplementado 99:1 con tributirina (Himedia), según Ribeiro Júnior et al. (2018). Las condiciones de incubación, tiempo y temperatura fueron las mismas que para la evaluación de la actividad proteolítica” [111].

“Mediante PCR se seleccionaron aislados de *S. aureus* positivos para ciertos genes productores de toxinas provenientes de diferentes muestras de queso. Colonias con diferentes potenciales de producción de toxinas, se seleccionaron más de una de cada muestra de MFC” [105].

“Los antibiogramas se obtuvieron según el modelo de difusión en disco por Barry et al. (1970). Los agentes quimioterapéuticos utilizados fueron tetraciclina (30 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), gentamicina (10 µg), ciprofloxacina (5 µg), sulfazotrim (1,25/23,75 µg), trimetoprima (5 µg), estreptomicina ( 10 µg), cefoxitina (30 µg) y enrofloxacino (5 µg), este último fue incluido por ser un antibiótico de uso frecuente en la práctica veterinaria en Brasil” [112]. “Los resultados se interpretaron con base en las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020)” [113].

“*S. aureus* resistente a meticilina (MRSA) según Sultana et al. (2019)” [114], y “CLSI (2020)” [113]: “por la presencia del gen mecA (Tabla 2) y fenotípicamente por la correspondencia con cefoxitina. VRSA se verificó mediante concentraciones mínimas inhibitorias, Mueller – Hinton (Kasvi) en las siguientes concentraciones: 0,5; 1; 2; 4; 8 y 16 µg/mL de vancomicina (CLSI, 2020). Se utilizó un punto de corte de ≤ 2 µg/ml para determinar la sensibilidad” [105].

“Se observaron recuentos elevados de CPS con un promedio de > 6 log ufc/g. De los 355 aislamientos, 177 (49,86 %) fueron identificados como *S. aureus*, *S, hyicus*, *S. intermedius*, *S. delphini* y *S. coagulans*. Del total de *S. aureus*, 25 (52,08 %) resultaron positivos para el gen que codifica la toxina del shock tóxico (TSST – 1). Otros 16 (33,33 %) fueron positivos para el gen sea, y 4 aislados (8,33 %) fueron positivos para see y un aislado cada uno fue positivo para los genes seb (2,08 %), sec (2,08%) y etb (2,08 %). Todos los aislados demostraron actividad

lipolítica en condiciones mesófilas y psicrotróficas. *S. intermedius* y *S. hyicus* tuvieron el potencial proteolítico más destacado. Se observó potencialmente toxigénicos, siendo la clindamicina la que tuvo la eficiencia más baja (40 %), mientras que los aminoglucósidos (gentamicina y estreptomicina) tuvieron la mayor efectividad demostrando inhibición en todos aislados evaluados. Quesos de las Minas Frescal, comercializados en Tocantins en la región amazónica brasileña, no cumplen con los estándares legales de calidad y suponen potencial enterotoxigénico de los aislados multirresistentes, además de la baja vida útil de las muestras dado el alto potencial de deterioro de estos" [(105)].

### 1.1.3 *Listeria monocyitogenes*

"La bacteria fue aislada por Murray y cols." [(115)]. "*L. Monocytogenes* es de carácter zoonótico y *L. ivanovii* genera infección en rumiantes" [(116)]. "Se trasmite por alimentos" [(117)]. "Entre el 2 – 6 % de la población porta *L. monocytogenes* de manera asintomáticamente y lo excreta a través de sus heces" [(118)].

"Suele afectar a personas inmunocomprometidas y inmunocompetentes" [(119)]. "Tiene una tasa de mortalidad del 20 al 30%" [(120)].

"*L. monocytogenes* puede transmitirse en el parto" [(118)]. "También hay informes de transmisión nosocomial debido a la entrada de materiales y alimentos contaminados al hospital" [(121)].

"Las bacterias pueden proliferar y formar biopelículas, también en refrigeración, y soportar condiciones de pH desfavorables y NaCl" [(122)].

"*L. monocytogenes* es un bastoncillo grampositivo corto, anaeróbico facultativo, móvil, patógena para los humanos" [(123)]. "Los principales productos incriminados son los productos lácteos, los productos cárnicos semiacabados preparados (embutidos, carnes exóticas y patés); aves y pescado poco cocidos, verduras crudas sin lavar e incluso frutas contaminadas" [(124)].

"Se internaliza, sale de las vacuolas fagocíticas, se replica intracelularmente y se propaga de una célula a otra" [(125)].

"Una vez que los alimentos contaminados ingresan al cuerpo provoca su propia internalización en células no fagocíticas" [(126)], "donde escapa a la destrucción y destruyen la membrana fagosómica impidiendo su digestión intracelular. Fagocitado por macrófagos, y luego pasa a las células vecinas. Gracias a estos pasos, Listeria puede multiplicarse y propagarse en el cuerpo sin estar expuesta en el líquido extracelular" [(127)].

"Sin embargo, enfermedad invasiva puede ocurrir en personas no inmunocomprometidas" [(128)].

“El período gastroenteritis febril autolimitada que implica la ingestión de un inóculo grande es de 24 horas, y en estos casos la enfermedad dura de 2 a 3 días” [128].

"En huéspedes mamíferos, invaden las células eucariotas, navegan por el entorno intracelular y se diseminan a los tejidos" [130].

“Listeriosis gastrointestinal no invasiva y listeriosis invasiva afecta a varios órganos, especialmente al sistema nervioso central (SNC)” [131].

“En pacientes inmunocomprometidos, la listeriosis puede presentarse como septicemia o meningoencefalitis, generalmente con fiebre, dolor de cabeza intenso. El patrón de rombencefalitis afecta el tronco del encéfalo, es una manifestación inusual de listeriosis" [132].

“La listeria durante el embarazo puede provocar aborto o muerte fetal” [98]. Meningitis en la aparición tardía, en la que los hallazgos clínicos predominantes son fiebre e irritabilidad” [133].

“Es el agente causante de la listeriosis, una enfermedad grave transmitida por los alimentos que puede provocar muerte fetal, meningitis y septicemia y muerte en humanos. Los grupos de riesgo incluyen mujeres embarazadas, recién nacidos e individuos inmunodeprimidos. Los humanos rara vez se infectan de animales infectados o sus heces” [134].

“*Listeria spp*. en materia orgánica del suelo, como las plantas en descomposición” [134]. “La especie frecuentemente en seres humanos clínicamente sanos (prevalencia del 6 al 24 %) y de animales domésticos y salvajes” [135].

“La tasa de letalidad oscila entre el 20 y el 30 %, a pesar del tratamiento antimicrobiano adecuado” [136].

“El desarrollo de la enfermedad depende de la inmunocompetencia del huésped, carga bacteriana y típicamente requiere *Listeria spp*. para cruzar la mucosa oral o intestinal” [135]. “Se han descrito trece serotipos de *L. monocytogenes* y se dividen en cuatro subdivisiones filogenéticas (linajes I – IV), cada uno comúnmente se reporta en humanos, mientras que los serotipos 1/2a y 4b se detectan a menudo en animales. Mediante PCR múltiple en gel, los serotipos de *L. monocytogenes* se clasifican en cuatro serogrupos” [137].

“En animales, la enfermedad se reporta principalmente en rumiantes domésticos, potencialmente asociada con una alimentación de ensilaje de mala calidad, pero también puede afectar a muchos otros mamíferos (artiodáctilos, carnívoros, lagomorfos, roedores, insectívoros y primates), así como a aves. La presentación de la enfermedad incluye septicemia, encefalitis, meningitis, meningoencefalitis, aborto, muerte fetal y gastroenteritis” [134].

“La listeriosis es una enfermedad grave. Afecta principalmente a poblaciones vulnerables, incluidos ancianos, mujeres embarazadas, recién nacidos y personas con sistemas inmunitarios comprometidos. Los brotes de listeriosis en varios países se han asociado con el consumo de productos lácteos. Por ejemplo, en Alemania, entre 2006 y 2007, un brote importante de listeriosis se debió al consumo de queso sin pasteurizada” [138]. “Otro incidente notable ocurrió en Quebec, Canadá, en 2008, donde un brote generalizado de listeriosis estuvo relacionado con el queso pasteurizado, que afectó a varios consumidores” [139].

“Los brotes de listeriosis transmitidos por alimentos en los Estados Unidos se han relacionado con varios productos lácteos a lo largo de los años” [140].

“En el año 2022, se produjeron tres brotes de listeriosis asociados con carnes frías y quesos que provocaron (16 enfermedades, 13 hospitalizaciones y 1 muerte) en 6 estados que provocaron (6 enfermedades y 5 hospitalizaciones) en 6 estados), y helado causando (28 enfermedades, 27 hospitalizaciones y 1 muerte) en 11 estados” [141].

“Si bien no se han reportado brotes de listeriosis asociados a productos lácteos en África, el brote de listeriosis más grande del mundo (asociado con carne procesada lista para el consumo) se documentó en Sudáfrica” [141].

“Los brotes de listeriosis demuestran la importancia de investigar las fuentes potenciales de *L. monocytogenes* dentro de las cadenas de suministro de alimentos para mitigar los eventos de contaminación. Además, los estudios diseñados para comprender la prevalencia, distribución y diversidad genómica de Listeria spp. no patógena, como Listeria innocua, pueden proporcionar información valiosa sobre la ecología y las posibles fuentes de contaminación asociadas con la patógena L. monocytogenes. Esto es particularmente importante en Países de ingresos bajos y carecen de medios para un sistema de vigilancia para *L. monocytogenes* y por lo tanto dependen de otros estudios de investigación para estimar la prevalencia de *Listeria spp.* y *L. monocytogenes* en las cadenas de suministro de lácteos en los países de ingresos bajos y medios de África” [142].

“Se estimaba que Etiopía tenía el mayor número de cabezas de ganado y un sector de producción de leche con una capacidad sustancial de crecimiento. Uno de los factores que puede contribuir para la producción segura de leche en Etiopía es el eficaz control de patógenos transmitidos por los alimentos asociados a los lácteos, como *L. monocytogenes*” [143].

“Varios estudios realizados en Etiopía han identificado la presencia de *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* en diversas leches y productos lácteos, incluidos los pasteurizados. Leche, helado, pasteles de crema, requesón y yogur” [143].

“La prevalencia de *Listeria spp*. y *L. monocytogenes* varía entre las diferentes categorías de productos en Etiopía. Por ejemplo, en cuatro estudios con leche pasteurizada en muestras (n=190), la prevalencia de especies de *Listeria spp.* osciló entre 0 y 60 %, mientras que la prevalencia de *L. monocytogenes* osciló entre 0 y 20 %. Además, siete estudios que investigaron muestras de queso cottage (n=431) informaron una prevalencia de especies de *Listeria spp*. que oscilaba entre el 0 y el 53 %, y una prevalencia de *L. monocytogenes* que oscilaba entre el 0 y el 5 %” [(143)].

“La prevalencia de *Listeria spp*. en la cadena de suministro de productos lácteos de Etiopía se comprende relativamente bien, existe una brecha en la comprensión de su diversidad genómica y sus relaciones filogenéticas. Caracterización genética de microorganismos, incluida *Listeria s*pp. Permite un análisis exhaustivo de genomas casi completos, proporcionando información detallada sobre las características genéticas de aislados individuales. Por lo tanto, aplicamos WGS para investigar la diversidad genética, las relaciones filogenéticas. *L. monocytogenes* y otras Listeria spp. aislados recolectados en diferentes niveles lácteos en tres regiones de Etiopía” [(142)].

“La listeriosis, amenaza para las poblaciones vulnerables. Los productos lácteos han estado implicados en brotes de listeriosis. Etiopía, los estudios han identificado *Listeria spp*. y *L. monocytogenes* en diversos productos lácteos, pero la diversidad genética de estas bacterias desconocidas en los países de ingresos bajos y medianos. Por lo tanto, se realizaron una secuenciación del genoma completo de 15 aislamientos de *L. monocytogenes* y 55 de *L. innocua* obtenidos de diferentes niveles de las cadenas de suministro de lácteos en tres regiones de Etiopía. Los genomas se ensamblaron y utilizaron para el genotipado la tipificación multilocus de secuencias (MLST)” [(142)].

“MLST y el análisis de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) para inferir relaciones filogenéticas identificaron 3 *L. monocytogenes* (es decir, 2, 145 y 18) y 12 *L. innocua*. Tipos de secuencia MLST entre los aislados estudiados. Algunos de estos tipos de secuencias mostraron una ocurrencia específica de una región, mientras que otros estaban ampliamente distribuidos entre regiones. Análisis de SNP de alta calidad, encontraron que entre 13 *L. monocytogenes* identificados como ST 2, 11 de ellos eran muy similares con baja variación genética, difiriendo solo entre 1 y 10 SNP, lo que sugiere una selección potencial de alimentos lácteos. Los aislados de *L. innocua* también exhibieron una baja variación genética intra – ST con solo 0 a 10 diferencias de SNP, excepto el ST 1619, que mostró una mayor diversidad” [(142)].

### 1.1.4 *Salmonella*

“El género bacteriano Salmonella están constituido por bacilos gram negativos intracelulares de 2 – 3 um de largo y de 0,4 – 0,6 um de diámetro, anaeróbicos facultativos con flagelos peritricos

con excepción de Salmonella entérica subespecie entérica serovar Gallinarum que tiene dos biovares distintos (Gallinarum y Pullorum) que son inmóviles, no producen indol ni degradan la urea, reducen nitratos, no producen oxidasa, descarbonizan la lisina y la ornitina, ausencia de capsula con excepción de (*Salmonella* typhi, *Salmonella* Paratyphi C y *Salmonella* Dublin), producen ácido sulfhídrico ($H_2S$), fermentan la glucosa (excepto *Salamonella typhi*), No fermentan la lactosa (excepto *Salmonella enterica subesp. arizonae* y *Salmonella enterica subesp. diarizonae*)" [(118)].

"Su genoma contiene aproximadamente 4 400 – 5 600 secuencias de codificación" [(119)].

"El anatomopatólogo Salmon lo identifico en el cerdo (*Salmonella choleraesuis*). Sobrevivencia intrafagocítica" [(120)].

"Desde el año 2005 basado en estudios genéticos el género Salmonella con especies: a) *Salmonella entérica*, tomando en cuenta las características bioquímicas generales se subdivide en seis subespecies" [(121)]:

- "Salmonella *entérica* subesp. *entérica* (subesp. I), antes *Salmonella choleraesuis* subesp. e*ntérica*.
- Salmonella *entérica* subesp. *salamae* (subesp. II), antes *Salmonella choleraesuis* subesp. *salamae*.
- Salmonella *entérica* subesp. *arizonae* (subesp. IIIa), antes *Salmonella choleraesuis* subesp. *arizonae*.
- Salmonella *entérica* subesp. *diarizonae* (subesp. IIIb), antes *Salmonella choleraesuis* subesp. *diarizonae*.
- Salmonella *entérica* subesp. *houtenae* (subesp. IV), antes *Salmonella choleraesuis* subesp. *houtenae*.
- Salmonella *entérica* subesp. *indica* (subesp. VI), antes *Salmonella choleraesuis* subesp. *Indica*" [(121)].

b) *Salmonella bongori* que era antiguamente la subespecie (V). Salmonelas de mayor importancia médica pertenecen a las subespecies entérica y arizonae" [(121)].

"Las cepas de Salmonella en el sistema de clasificación de Kauffmann – White basado en antígenos: polisacárido O (somático: oligosacáridos asociados a lipopolisacáridos), H (flagelar) y Vi (capsular). El antígeno O llegan a ser más de 50 serogrupos, y más de 2 500 serotipos (cada uno con una única combinación de antígeno somático O, flagelar H1 y flagelar H2).

Salmonella Typhimurium (*Salmonella entérica* subespecie *entéric*a serovariedad Typhimurium) y Salmonella Enteritidis (*Salmonella entérica* subespecie *entérica* serovariedad Enteritidis). *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi C y *Salmonella* Dublin portan el antígeno "Vi" (subtipo especial del antígeno K de la cápsula (*Kapsel* significa en Alemán). Serotipos pertenece a la subespecie *S. enterica*, y representan más del 99 % de las enfermedades provocadas en humanos ocasionando (gastroenteritis y fiebre entérica)" [122].

En la tabla 4 se indica la clasificación con antígenos somáticos y flagelares.

**Tabla 4. Clasificación de Kauffmann – White para Salmonella [123]**

| Grupo "O" | Serovar | Antígenos "O" | Antígenos "H" | |
|---|---|---|---|---|
| | | | fase 1 | fase 2 |
| A | S. Paratyphi A | 1,2,12 | uno | Ninguno |
| | S. Paratyphi A var. Durazzo | 2,12 | uno | Ninguno |
| B | S. Paratyphi B | 1,4,5,12 | b | 1,2 |
| | S. Paratyphi B var. Odense | 1,4,12 | b | 1,2 |
| | S. Java | 1,4,5,12 | b | (1,2) |
| | S. Limete | 1,4,12,27 | b | 1,5 |
| | S. Typhimurium | 1,4,5,12 | Yo | 1,2 |
| | S. Typhimurium var. Copenhague | 1,4,12 | Yo | 1,2 |
| | S. Agama | 4,12 | Yo | 1,6 |
| | S. Abortus-equi | 4,12 | Ninguno | e,n,x |
| | S. abortus-ovis | 4,12 | c | 1,6 |
| | S. Agona | 4,12 | f,g,s | Ninguno |
| | S. Brandeburgo | 4,12 | l,v | e,n,z15 |
| | S. Bredeney | 1,4,12,27 | l,v | 1,7 |
| | S. Derby | 1,4,5,12 | f,g | Ninguno |
| | S. Heidelberg | 1,4,5,12 | r | 1,2 |
| | S. Saintpaul | 1,4,5,12 | e,h | 1,2 |
| | S. salinatis | 4,12 | d,e,h | d,e,n,$z_{15}$ |
| | S. Stanley | 4,5,12 | d | 1,2 |
| C1 | S. Paratyphi C | 6,7,Vi | c | 1,5 |
| | S. choleraesuis | 6,7 | c | 1,5 |
| | S. choleraesuis var. Kunzendorf | 6,7 | (c) | 1,5 |
| | S. Decatur | 6,7 | c | 1,5 |
| | S. typhisuis | 6,7 | c | 1,5 |
| | S. Bareilly | 6,7 | y | 1,5 |
| | S. Infantis | 6,7 | r | 1,5 |
| | S. Menston | 6,7 | g,s,t | Ninguno |
| | S. Montevideo | 6,7 | g,m,s | Ninguno |
| | S. Oranienburg | 6,7 | m,t | Ninguno |
| | S. Thompson | 6,7 | k | 1,5 |
| C2 | S. Bovismorbificans | 6,8 | r | 1,5 |
| | S. Newport | 6,8 | e,h | 1,2 |
| D | S. Typhi | 9,12,Vi | d | Ninguno |
| | S. Ndolo | 9,12 | d | 1,5 |
| | S. Dublín | 1,9,12,Vi[6] | g,p | Ninguno |
| | S. enteritidis | 1,9,12 | g,m | Ninguno |
| | S. gallinarum | 1,9,12 | Ninguno | Ninguno |
| | S. pulorum | (1),9,12 | Ninguno | Ninguno |
| | S. Panamá | 1,9,12 | l,v | 1,5 |
| | S. Miami | 1,9,12 | uno | 1,5 |
| | S. Sendai | 1,9,12 | uno | 1,5 |
| E1 | S. Anatum | 3,10 | e,h | 1,6 |
| | S. Dar | 3,10 | l,v | 1,7 |
| | S. Londres | 3,10 | l,v | 1,6 |
| | S. meleagridis | 3,10 | e,h | L,W |
| E2 | S. Cambridge | 3,15 | e,h | L,W |
| | S. Newington | 3,15 | e,h | 1,6 |
| E3 | S. Minneapolis | (3),(15),34 | e,h | 1,6 |
| E4 | S. Senftenberg | 1,3,19 | g,s,t | Ninguno |
| | S. Simsbury | 1,3,19 | Ninguno | z27 |
| F | S. Aberdeen | 11 | Yo | 1,2 |
| G | S. Cubana | 1,13,23 | z29 | Ninguno |

“De acuerdo con la división ecológica de la Salmonella tenemos: a) *Salmonella spp* adaptadas a vivir en el humano (S. typhi, S. paratypki A, B y C). b) *S. spp* no adaptadas a humano (*S. dublin*, *S. cholerae – suis*). c) *S. spp*. de huésped inespecíficos, que incluyen a 1 800 serovariedades en el mundo” [124].

“Los serotipos que producen enfermedad invasiva: *Salmonella* typhi y *Salmonella* paratyphi. Dentro de las no tifoideas encuentran: *Salmonella* stanley, *Salmonella* saintpaul, *Salmonella* agona, *Salmonella* typhimurium, *Salmonella* cholerae – suis, *Salmonella* virchow, *Salmonella* thompson, *Salmonella* enteritidis, *Salmonella* dublin y *Salmonella* gallinarum” [124].

“Las infecciones por Salmonella comienzan con el alimento contaminado o en el agua contaminada e ingresa por endocitosis” [133]. “Se considera que las células microepiteliales especializadas (células M) sobre las placas de Peyer; contribuye para el proceso infeccioso” [133].

“Las Salmonellas codifican un SSTT que permite la translocación de proteínas de virulencia hacia el interior de la célula del hospedero” [133].

“Salmonella mediante su LPS se une a su receptor de tipo Toll 4 (TLR – 4), flagelina al receptor de tipo Toll 5 y lipoproteínas bacterianas al receptor tipo Toll 2. Esta respuesta involucra componente como los dominios de oligomerización de unión a nucleótidos (Nod1 y Nod2), cuya activación conduce a la síntesis de citocinas que dirigen la respuesta inflamatoria y dan instrucciones para la posterior respuesta inmunitaria específica. El sistema inmunitario innato puede suprimir la replicación inicial de Salmonella, sin embargo, la depuración final ante una nueva exposición requiere una respuesta de los linfocitos T CD4 de tipo Th1 y producción de anticuerpos específicos” [133].

“La cápsula de polisacáridos Vi de *S. typhi* puede evitar el reconocimiento del LPS por parte de los receptores tipo Toll 4” [133].

“En el Perú, las empresas queseras es mayormente Micro y Pequeña Empresa que generalmente no tienen un sistema para la inocuidad del queso” [1]. “En una entrevista realizado a los procesadores de queso en el sur de Ghana, la mayoría tenían conocimientos, actitudes y prácticas deficientes en el procesamiento tradicional del queso” [137]. Similar acontecimiento ocurre en nuestro medio y además es deficiente la información estadística referente al tema de investigación.

“En la última década ha surgido una nueva metodología de conservación, basada en el almacenamiento bajo presión moderada (entre 25 y 150 MPa), el almacenamiento hiperbárico (HS), que se basa principalmente en la desaceleración/inhibición del crecimiento microbiano, comparable a la refrigeración convencional (RF)” [138]. “Inicialmente, los primeros estudios

sobre HS enfatizaban la combinación de temperaturas bajas o bajo cero con baja presión" [139]. "Sin embargo, cuando se aplica HS a temperatura ambiente (RT), surge como una metodología de conservación de alimentos más amigable con el medio ambiente en comparación con RF, con un potencial sustancial para extender la vida útil de los alimentos y aumentar la seguridad microbiana" [140]. "Durante el almacenamiento a temperatura variable no controlada, la energía empleada para mantener la temperatura es nula, aplicándose únicamente durante la compresión/descompresión del recipiente de almacenamiento, lo que resulta en hasta 26 veces menos energía utilizada por HS/RT, en comparación con RF" [141].

"El posible efecto de la HS superior se evaluó en primer lugar en zumos de frutas, desde los más ácidos (zumo de fresa) hasta los de baja acidez, más perecederos (zumos de sandía y melón), y los resultados apuntan a una posible extensión de la vida útil, causada por la inhibición/inactivación microbiana durante la HS, con cambios fisicoquímicos reducidos observados" [142].

"El queso de suero portugués, que solo tiene un par de semanas de vida útil en RF, no presentando después de 8 h a 100/RT cambios pronunciados en color, pH y actividad del agua, mostrando un ligero aumento en la oxidación de lípidos, con una inactivación microbiana pronunciada en todos los grupos microbiológicos incluso (25–37 °C)" [143]. "En un segundo estudio, este producto presentó una estabilidad mejorada por debajo de 100 MPa durante períodos de almacenamiento más prolongados (10 días) a temperatura ambiente variable, manteniendo el pH, la actividad del agua y ácidos grasos, mientras muestra menos pérdidas de color en comparación con RF, con un efecto de inactivación microbiana pronunciado hasta recuentos indetectables (1 log UFC/g) en todos los grupos microbiológicos estudiados, a partir del tercer día de almacenamiento en adelante" [144].

"Otros productos lácteos frescos, como los quesos frescos (QF), también son extremadamente perecederos y se caracterizan por una vida útil corta (unas pocas semanas en RF), principalmente alta actividad de agua y su rico perfil nutricional que promueve el deterioro microbiano, mayor sinéresis, disminución del pH, lipólisis, proteólisis, oxidación y formación de sabores desagradables, que limitan de manera crucial su vida útil. El QF almacenado en condiciones HS/RT (75 – 100 MPa) resultó en un mayor control microbiano, lo que llevó a una mayor vida útil microbiana, manteniendo al mismo tiempo parámetros fisicoquímicos básicos (pH, pérdida de suero, contenido de humedad y color) a niveles comparables a quesos antes del almacenamiento. Además, una importante inactivación hiperbárica, reduciéndose gradualmente los recuentos de mesófilos aeróbicos totales (desde 7 logUFC/g) a más de 5 unidades log en 60 días de almacenamiento, alcanzando progresivamente valores por debajo de los límites de cuantificación y detección (2 y 1) logCFU/g)" [144].

“El QF altamente perecederos, se almacenaron en almacenamiento hiperbárico a temperatura ambiente (HS/RT, 50–100 MPa) y se compararon con refrigeración (RF, 4 °C), durante 60 días. Bajo HS/RT (≥75 MPa), los QF presentaron perfiles de ácidos grasos y orgánicos volátiles más estables y una tasa de oxidación de lípidos reducida, particularmente para los QF de vaca, que se asemejan más a los QF antes del almacenamiento, a diferencia de los quesos refrigerados. No se observaron cambios en la proteína total, pero los aminoácidos libres aumentaron con el tiempo después de 60 días a 75/RT de 13 y 16 veces, y a 100/RT de 14 y 8 veces, respectivamente. En general, los resultados indican un mayor rendimiento general de conservación logrado por HS/RT para FC de vaca y cabra en comparación con RF, lo que ralentiza la degradación de la matriz de FC, lo que posiblemente conduzca a una extensión considerable de la vida útil” [145].

## 1.2 Antecedentes

"Rodríguez (2015) reporta del mercado de quesos de Tunga, Colombia: 66 x $10^6$ u. f. c. /gr. de coliformes y 12 x $10^5$ u. f. c. /gr. de mesófilos aerobios, superando los límites máximos permitidos" [(146)].

"En Libia (2016) en Tripoli (noviembre 2011 – mayo 2012) se recolectaron 87 quesos de 7 áreas (4 a 5 fábricas de cada área con 3 duplicados). Resultados: aerobios mesófilos, coliformes totales y *S. aureus* fueron (38 × $10^7$, 74 × $10^5$, 35 × $10^4$ y 53 × $10^3$ ufc/g) respectivamente" [(147)]; "excediendo los parámetros de "NTS – 071: Coliformes (5 x $10^2$ – $10^3$/g), *S. aureus* (10 – $10^2$/g), *E. coli* (3 – 10/g), *L. monocytogenes* y *Salmonela spp*. (ausencia/25 g)" [(30)].

"Cueva desde Tacna (2016) reporta la calidad microbiológica de los quesos frescos que se expenden en 11 mercados municipales del distrito de Tacna, entre los meses de julio a octubre se tomaron 41 muestras. Resultados: Coliformes 28/41 (68 %), *E. coli* 29/41 (71 %), *S. aureus* 26/41 (63 %). Él 30/41 (73 %) de las muestras exceden los limites microbiológicos mínimos permitidos según la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA" [(148)].

Vásquez A et al., (Cajamarca, 2018), reportan los resultados del promedio de 30: mesófilos viables 1,06 x $10^5$ UFC/g, coliformes totales 6,32 x $10^3$ NMP/g, coliformes fecales 4,75 x $10^3$ NMP/g, *S. aureus* 4,02 x $10^3$ ufc/g. Comparado con NTS – 071: *Coliformes* (5 x $10^2$ – $10^3$/g), *S. aureus* (10 – $10^2$/g), *E. coli* (3 – 10/g), *L. monocytogenes* y *Salmonela spp.* (ausencia/25 g), no es inocuo para el consumo humano" [(149)].

"Vasquez M reporta desde la Libertad – Trujillo (2019), reporta los resultados promedios del análisis de 75 muestras de quesos artesanal de 5 Distritos de Libertad – Trujillo; para los coliformes totales, termo tolerante y *E. coli* 65,02 x $10^3$, 50,89 x $10^3$ y 31, 51 x $10^3$ NMP/100g respectivamente, *S. aureus* 8,02 x $10^2$ u. f. c./g; superando los limites permisibles de la NTS N° 071, no siendo inocuo" [(150)].

"Ccaso (Juliaca – Perú, 2020) reporta que el 96 % de muestras de quesos contenían *S. aureus*, 91 % *E. coli* y 91 % Coliformes, y el promedio sobre pasaron los niveles máximos permitidos" [(151)].

"El estudio analizó 15 muestras de leche cruda y 15 de queso madurado Livno. Se realizaron la detección y cuantificación de los siguientes microorganismos: estafilococos coagulasa positivos, bacterias mesófilas aerobias (para muestras de leche), *E. coli*, enterobacterias, clostridios reductores de sulfito (para muestras de queso), levaduras y mohos. *Salmonella spp*. no se detectó. El análisis microbiológico de la leche reveló niveles variables de bacterias mesófilas aeróbicas, *E. coli*, enterobacterias, levaduras, mohos y *L. monocytogenes*. Se detectaron

estafilococos positivos a Coagulasa en sólo dos de 15 muestras de leche cruda. En 15 muestras de queso Livno, todos los microorganismos analizados estaban por debajo de niveles detectables, excepto *E. coli* (en dos muestras) y Enterobacteriaceae (en tres muestras). Las pruebas estadísticas indicaron diferencias significativas en la presencia y cantidad de microbios entre productos lácteos, excepto para los estafilococos coagulasa positivos. Dada la importancia de la microbiología del queso para la seguridad alimentaria y la salud del consumidor, esta investigación proporciona información valiosa sobre la producción y el control de calidad de este queso tradicional bosnio" [(152)].

## II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

### 2.1 Lugar de estudio y duración de la investigación

#### 2.1.1 Lugares

- Establecimientos de comercio de productos lácteos del Distrito de Chincha, Departamento de Ica.
- Laboratorio de investigación de la FMVZ – Universidad Nacional "San Luis Gonzaga".

#### 2.1.2 duración

- **Fecha de inicio:** Enero del 2023.
- **Fecha de culminación:** Abril del 2023.

### 2.2 Población y muestreo

#### 2.2.1 Población

Quesos frescos.

#### 2.2.2 Muestreo

Se muestrearon 5 puestos de ventas de quesos del Mercado de Abasto y 15 puestos de La parada.

### 2.3 Recolección de datos

#### 2.3.1 Unidad de muestreo

100 gramos de queso.

#### 2.3.2 Unidad de análisis

Bacterias procedentes del queso.

#### 2.3.3 Recuento de coliformes

##### 2.3.3.1 Dilución de la muestra de queso

- Se peso 10 g de queso y se mezcló con 90 mL de agua peptonada al 0,1 %, obteniéndose la dilución $10^{-1}$.
- Dilución $10^{-1}$, se realizaron diluciones hasta $10^{-3}$.

##### 2.3.3.2 Siembra

- 1 mL de ($10^{-1}$ – $10^{-3}$) se inoculó en placas petris.
- Se adicionó agar Mac Conkey licuado y se dejó a solidificar.
- Incubación de 35 – 37 °C durante 18 – 24 h.
- Se contabilizaron las colonias lactosas positivas.

#### 2.3.4 Recuento de *Escherichia coli*

##### 2.3.4.1 Siembra de queso diluido

- 1 mL de ($10^{-1}$ – $10^{-3}$) en placas petris.

- Se adicionó agar Mac Conkey licuado, se mezcló con la muestra y se dejó a solidificar.
- Incubación de 44,5 °C ± 0,2 °C durante 18 – 24 h.
- Se contabilizaron las colonias lactosas positivas.

**2.3.5 cuantificación de *S. aureus***

**2.3.5.1 Siembra de la muestra de queso diluida**

- De cada dilución ($10^{-1}$ – $10^{-3}$), 1 mL en placas petris.
- Se adicionó agar Baird parker licuado, se mezcló con la muestra y se dejó a solidificar.
- Incubación de 35 – 37 °C durante 18 – 24 h.

**2.3.6 Presencia de *Listeria monocitogenes***

**2.3.6.1 Siembra del queso**

- Base Listeria (LEB), durante 4 h a 30 °C.
- Se le añadió 0,9 mL del suplemento selectivo para LEB e incubó a 30 °C hasta completar las 24 horas.

**2.3.6.2 Aislamiento**

- Se trasplantó por estría y agotamiento el LEB en agar Listeria.
- Incubación a 35 °C durante 24 h.

**2.3.6.3 identificación**

- El agar Listeria es ambar.
- *Listeria monocytogenes*. Cultivos Tipo Americana (ATCC) 19112 (colonias pequeñas, negras y rodeadas de un halo negro).

**2.3.7 Presencia de *Salmonella sp.***

**2.3.7.1 Preparación de muestras y pre – enriquecimiento bacteriano**

- Agua peptonada al 0,1 %.
- Incubación.

**2..3.7.2 Enriquecimiento bacteriano**

- Se trasplantó en pre – enriquecidas en 10 mL de caldo selenito cistina.
- Incubación de 35 – 37 °C durante 18 – 24 h

**2.3.7.3 Aislamiento e identificación de colonias bacterianas**

- Se trasplantaron mediante estrías en agares (Mac Conkey y Xilosa Lisina Desoxicolato “XLD”).
- Incubación de 35 – 37 °C durante 18 – 24 h.

**2.3.7.4 identificación en agar XLD**

- Colonias rojas con centro negro.

#### 2.3.7.5 identificación de *E. coli*

- Colonias muy pequeñas lactosa negativa.

#### 2.3.7.6 Pruebas bioquímicas

- Sembrar por estría en citrato, por picadura y estría en agares (Hierro Triple Azúcar "TSI" y Lisina Hierro "LIA"), por punción en MIO, por dilución en medio para los ensayos de Rojo de Metilo "MR" y Voges Proskauer "VP", y estría en agar urea.
- Incubación de 35 – 37 °C durante 18 – 24 h.

#### 2.3.7.6 Identificación de *Salmonella typhimurium* ATCC

- Agar citrato (color del medio azul).
- Agar TSI (superficie rojo y profundidad amarillo).
- Agar LIA (color del medio purpura).
- Medio MIO (movilidad positiva, indol y ornitina negativos).
- Medio MR – VP (MR positivo y VP negativo).
- Agar urea (negativo, color del medio amarillo).

### 2.4 Procesamiento de los datos

*E. coli* y *S. aureus* se expresaron en unidades formadoras de colonias (ufc) por g de muestra. Para *L. monocytogenes* y *Salmonella spp*, se determinaron su presencia o ausencia en 25 g de muestra.

### 2.5 Diseño estadístico

Epidemiológica, no experimental (Estudio prospectivo – transversal – de nivel descriptivo).

### 2.6 Análisis estadístico

Se compararon los resultados con los criterios para quesos frescos de la NTS N° 071 – 2008 – DIGESA/MINSA [30].

## III. RESULTADOS

Las muestras de quesos 20/20 (100 %) con resultados no inocuo según la "NTS N° 071 – MINSA/DIGESA" [148]. No cumple con la calidad bacteriológica especificada por los criterios sanitarios para los quesos frescos que se indican en la tabla 5.

**Tabla 5. Criterios sanitarios para los quesos frescos**

| **Agente microbiano** | **Límites por g** | |
|---|---|---|
| | **m** | **M** |
| *Coliformes* | 05 x $10^2$ | $10^3$ |
| *Escherichia coli* | 03 | 10 |
| *Staphylococcus aureus* | 10 | $10^2$ |
| *Listeria monocytogenes* | Negativo/25 g | |
| *Salmonella sp.* | Negativo/25 g | |

**Fuente:** NTS N° 071 – 2008 – DIGESA/MINSA [30].

**En la tabla 6:**

Se identifican que los resultados para las muestras de quesos procedentes del Mercado de Abasto codificada (MA1 – MA5) y de la Parada (LP1 – LP15) no aptos 20/20 (100 %) para *Staphylococcus aureus*, Coliformes 4/20 (20 %) y *E. coli* 4/20 (20 %).

**Tabla 6. Calidad bacteriológica del queso. Distrito de Chincha Alta, Provincia de Chincha, Departamento de Ica, 2023.**

| Código Muestra | Coliformes *(ufc)* | *Escherichia coli (ufc)* | *Staphylococcus aureus (ufc)* | *Listeria monocytogenes* | *Salmonella sp.* | Resultado Inocuo | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Si | No |
| MA* 1 | 0 | 0 | $4{,}80 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| MA 2 | $7{,}0 \times 10^3$ | $6{,}85 \times 10^3$ | $7{,}60 \times 10^4$ | 0 | 0 | | X |
| MA 3 | 0 | 0 | $1{,}30 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| MA 4 | 0 | 0 | $1{,}70 \times 10^4$ | 0 | 0 | | X |
| MA 5 | 0 | 0 | $8{,}40 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP** 1 | 0 | 0 | $2{,}60 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP 2 | 0 | 0 | $3{,}80 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP 3 | 0 | 0 | $5{,}80 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP 4 | $4{,}50 \times 10^4$ | $4{,}34 \times 10^4$ | $3{,}60 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP 5 | 0 | 0 | $7{,}60 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP 6 | 0 | 0 | $9{,}60 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP 7 | 0 | 0 | $3{,}90 \times 10^4$ | 0 | 0 | | X |
| LP 8 | 0 | 0 | $3{,}80 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP 9 | 0 | 0 | $3{,}92 \times 10^4$ | 0 | 0 | | X |
| LP 10 | $2{,}50 \times 10^4$ | $2{,}32 \times 10^4$ | $3{,}80 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP 11 | 0 | 0 | $3{,}00 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| LP 12 | 0 | 0 | $1{,}90 \times 10^4$ | 0 | 0 | | X |
| LP 13 | $6{,}10 \times 10^4$ | $5{,}98 \times 10^4$ | $3{,}20 \times 10^4$ | 0 | 0 | | X |
| LP 14 | 0 | 0 | $3{,}00 \times 10^4$ | 0 | 0 | | X |
| LP 15 | 0 | 0 | $3{,}10 \times 10^5$ | 0 | 0 | | X |
| Total | 25 % | 25 % | 100 % | 0 % | 0 % | 00 | 100 |

* Mercado de Abasto ** La Parada

**Gráfico 1. Calidad bacteriológica del queso. Distrito de Chincha Alta, Provincia Chincha. Departamento Ica, 2023**

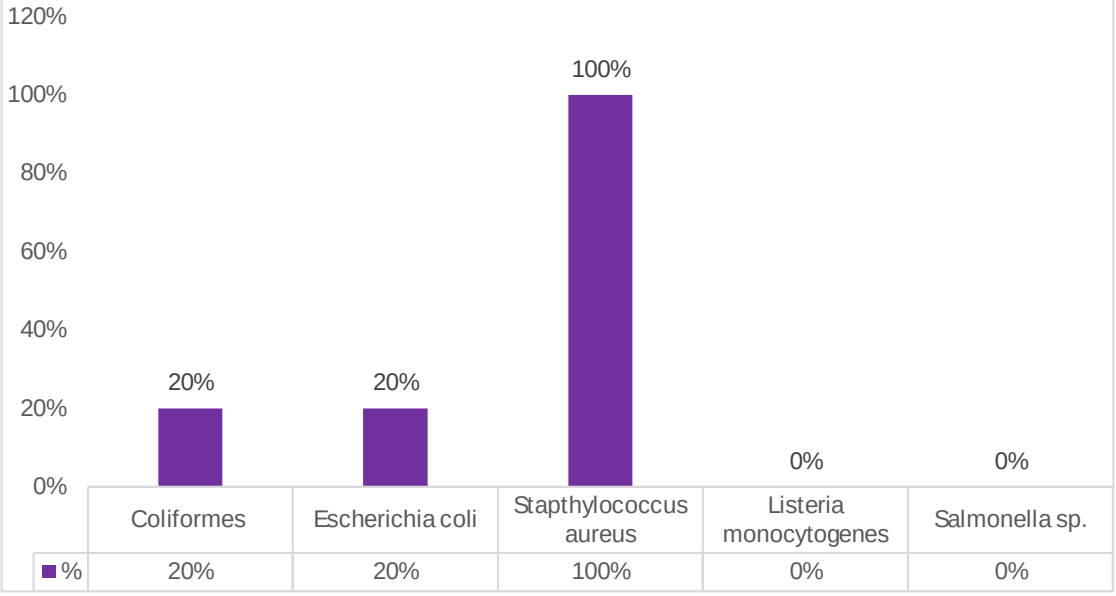
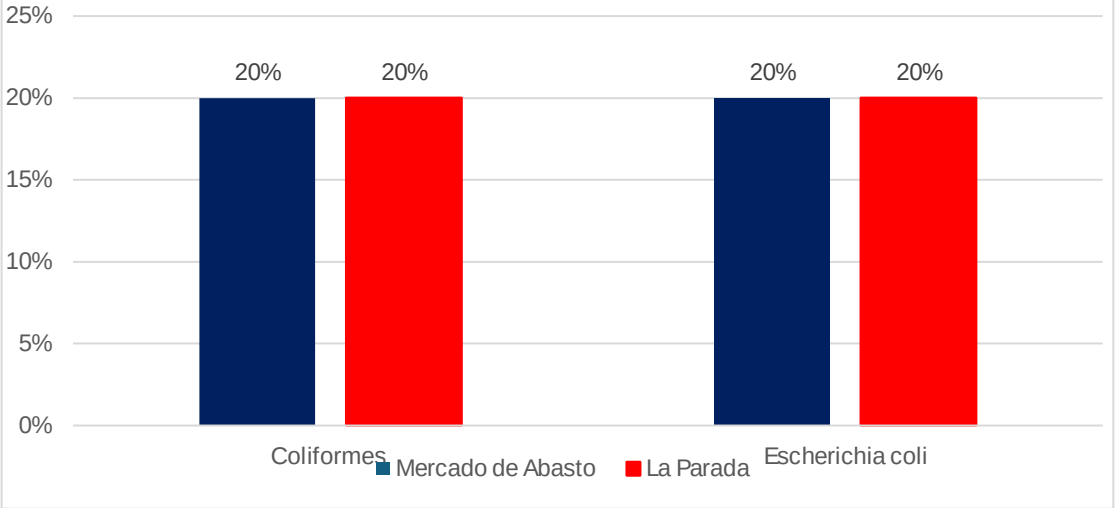



**Gráfico 2. Coliformes y *Escherichia coli* del queso. Distrito Chincha Alta, Provincia Chincha. Departamento Ica, 2023.**



# IV. DISCUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos 20/20 (100 %) las muestras de quesos no son aptos para el consumo debido principalmente a *Staphylococcus aureus* con riesgo para el consumidor por "la intoxicación alimentaria que causa debido a la enterotoxinas estafilocócicas (SE)" [46]. Es necesario considerar que las SE son termoestables y "el calentamiento no mitiga sus efectos" [73]. "SE puede comprometer la seguridad alimentaria, exponiendo al consumidor al riesgo de intoxicación, incluso después de eliminar formas vegetativas bacterianas mediante la pasteurización" [102]. "En Brasil la legislación ya determina la cuantificación de enterotoxinas estafilocócicas en relación con los recuentos de *Staphylococcus spp*." [104]. En el Perú debería también considerarse la determinación de SE relacionando con los recuentos bacterianos de Staphylococcus.

Coliformes y *E. coli* que son indicadores de higiene 4/20 (20 %) no cumplen con los limites mínimos permitidos. "La FAO recomienda aplicar el control de higiene y calidad durante toda la cadena alimentaria" [25].

Resultados similares para Coliformes obtenidos de 50 muestras en Colombia (2015): 66 x $10^6$ ufc/g de coliformes" [146].

"En Libia (2016) se evaluaron 87 queso fresco blanco de 7 áreas (4 a 5 fábricas con una tasa de 3 duplicados) que se comercializaron en Tripoli (noviembre 2011 – mayo 2012): Coliformes y *S. aureus* (3,5 × $10^5$ y 5,3 × $10^4$ ufc/g) respectivamente" [147].

"En Tacna (2016) se identificaron Coliformes 28/41 (68 %), *E. coli* 29/41 (71 %) con resultados muy superiores a nuestro estudio. *S. aureus* 26/41 (63 %) con resultados inferiores. Él 73 % (30/41) de las muestras exceden los limites microbiológicos mínimos permitidos según la NTS N° 071 – MINSA/DIGESA" [148].

Cajamarca (2018), reportan los resultados: Coliformes 6,32 x $10^3$ NMP/g, *E. coli* 4,75 x $10^3$ NMP/g, *S. aureus* 4,02 x $10^3$ ufc/g" [149].

Libertad – Trujillo (2019), reporta los resultados promedios del análisis de 75 muestras de quesos frescos artesanal de 5 Distritos de Libertad – Trujillo; para los coliformes totales 65,02 x $10^3$ NMP/100g, coliformes termotolerantes 50,98 x $10^3$ NMP/100g, *E. coli* 31,51 x $10^3$ NMP/100g, *S. aureus* 8,02 x $10^2$ u. f. c./g; superando los limites permisibles de la NTS N° 071, no siendo inocuo" [150].

Juliaca – Perú (2020) reporta resultados muy similares para *S. aureus* del 96 % y con resultados muy superiores para Coliformes 91 % y *E. coli* 91 %, y el promedio sobre pasaron los niveles máximos permitidos" [151].

Se coincide que los microorganismos bacterianos del queso fresco más prevalentes son *S. aureus* que podrían ocasionar ETAs mediante intoxicaciones alimentarias. Controlar desde su producción hasta su comercialización para asegurar un alimento inocuo que es un derecho de todo ser humano para no afectar su salud que es indispensables para las actividades diarias en nuestra familia, centro laboral y desarrollo de nuestro país.

# V. CONCLUSIONES

- La calidad bacteriológica del queso fresco no es inocua.
- Los quesos frescos no cuentan con los certificados sanitarios para su comercialización.
- Los quesos frescos no se mantienen en refrigeración para evitar la proliferación bacteriana y causar una ETA.

# VI. RECOMENDACIONES

- Exigir los certificados sanitarios de los productos lácteos en el Mercado de Abasto y La Parada.
- Mantener en refrigeración los productos lácteos para no causar una ETA debido a la proliferación de bacterias enterotoxigénicas.
- Capacitar a los vendedores para que mejoren sus labores en el orden, mantenimiento, conservación y comercialización de los alimentos.

## VII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS


1. Gonzales Espinoza, Christian; Rocío Puente de la Vega Vilca, Rocio. Lineamiento para la elaboración del plan de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) orientado a pequeños productores de queso fresco. Dirección general de saluds ambiental e inocuidad alimentaria (DIGESA) – MINSA. 2017.
2. Eck A. What is a cheese? En: A. Eck y J.C. Gilis (Eds). Cheesemaking: From Science to Quality Assurance. Lavoisier Publising. 200; pp. 661 – 662.
3. Scott R, Robinson, RK y Wilbey RA Cheese varieties. En: Scott, R., Robinson, R.K. y Wilbey, R.A. (Eds). Cheesemaking Practice, Tercera edición. Kluwer Academic/Plenum Publishers, Nueva York, EE.UU.1998; 449 pp.
4. Holsinger VH. Nutritional aspects of reduced-fat cheese. In: Malin EL, Tunick MH (eds). Chemistry of structure function relationships in cheese. Boston, MA: Springer. 1995; p 339 – 344.
5. Alais C. Ciencia de la leche: Principios de técnica lechera. Cuarta edición. Editorial Reverté S.A. Barcelona, España. 1985; 873 pp.
6. Van Hekken DL y Farkye N. Hispanic Cheeses: The quest for queso. Food Technology. 2003; 57:32 – 38.
7. Villegas – Soto I NR, Julio Díaz-Abreu II DA, Aldo Hernández-Monzón DI. Evaluación de la eficiencia tecnológica en la elaboración artesanal de queso fresco de coagulación enzimática Evaluation of technological efficiency handmade elaboration of a fresh enzymatic clotting cheese. Tecnol Química [Internet]. 2017. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v37n3/rtq02317.pdf.
8. Antezana CI. Efecto de la hidrólisis enzimática de la lactosa en el perfil de textura de queso fresco normal y bajo en grasa. 2015;115. Disponible en: http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1789/Q04_A558_T BAN UNALM.pdf?sequence=1
9. Codex Alimentarius. Leche y productos lácteos. 2nd ed. Roma; 2011. Disponible en: http://www.fao.org/3/a-i2085s.pdf.
10. Vásquez A. V, Salhuana G. JG, Jimenez D. LA, Abanto Ríos LM. Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. Ecol Apl [Internet]. 2018;17(1):45. Disponible en: https://scihub.tw/http://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i1.11
11. Buriti F, da Rocha J, Assis E, Saad S. Probiotic potential of Minas fresh cheese prepared with the addition of Lactobacillus paracasei. LWT - Food Science and Technology. 2005;38 (2): 173 – 180. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/223609003_Probiotic_potential_of_Minas_fresh_cheese_prepared_with_the_addition_of_Lactobacillus_paracasei.

12. Ramírez C, Vélez J. Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. 2012; 6 (2): 131 – 148. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Carolina_Ramirez_Lopez/publication/303959697_Quesos_frescos_propiedades_metodos_de_determinacion_y_factores_que_afectan__su_calidad/links/57601b6208ae227f4a3ee94e/Quesos-frescospropiedades-metodos-de-determinacion-y-factores-que-afectan-su-calidad.pdf.
13. Rullán J, Peiró E, Nieto-Sandoval A. Estudio de un brote epidemiológico de 81 casos de brucelosis consecutivo al consumo de queso fresco sin pasteurizar. Revista Española de Salud Pública. 2008; 70 (3). Disponible en: https://recyt.fecyt.es/index.php/RESP/article/view/1306.
14. Kumar S, Rai D, Niranjan K, et al. Paneer—An Indian soft cheese variant: a review. Journal of Food and Science Technology. 2014; 51: 821–831. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4008736/.
15. Litopoulou – Tzanetaki E. Soft-ripened and fresh cheeses: Feta, Quark, Halloumi and related varieties. Improving the Flavour of Cheese. 2007;474-493. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/285996832_Softripened_and_fresh_cheeses_Feta_Quark_Halloumi_and_related_var.
16. McSweeney, P.L.H. 2004. Biochemistry of cheese ripening. International Journal of Dairy Technology. 2004; 57(2-3):127 – 144.
17. MINAGRI promueve la cadena de producción y mayor consumo de queso peruano [Internet]. Gob.pe. [citado 19 Agosto 2020]. Disponible en: https://www.gob.pe/institucion/minagri/noticias/26977-minagri-promueve-lacadena-de-produccion-y-mayor-consumo-de-queso-peruan.
18. Sanz A. El sector del queso afianza su crecimiento. Distribución y consumo. 2017; 44 (5) Disponible en: https://www.mercasa.es/media/publicaciones/238/1513712484_El_sector_del_queso.pdf.
19. Reyes M, Gómez I, Espinoza C, Bravo F, Ganoza L. Tablas peruanas de composición de alimentos del Ministerio de salud de la República de salud del Perú [Internet]. 2009; 70 p. Disponible en: http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla de Alimentos.pdf.
20. Guía de intercambios de alimentos. Ministerio de salud: Centro nacional de alimentación y nutrición. [Internet]. 2014. Disponible en: https://bvs.ins.gob.pe/insprint/CENAN/Guia_de_intercambio_de_alimentos_201 4.pdf.
21. Asociación Americana de Diabetes. Lista de intercambios. 2008. Disponible en: https://dtc.ucsf.edu/pdfs-spanish/Food_Lists_Complete_05.23.11_ES.pdf

22. Instituto de Medicina. Ingestas dietéticas de referencia: la guía esencial para los requerimientos de nutrientes. Washington, DC: 2006. Disponible en: https://doi.org/10.17226/11537.
23. Sousa MJ, Ard Y y McSweeney PLH. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. International Dairy Journal. 2001; 11, 327 – 345.
24. Yoon Y, Lee S, Kim S, Choi KH, Lee H. Review. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. Food Control [Internet]. 2016 [citado 12 Jul 2017]; 63:201-215. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713515302863.
25. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Código de Prácticas de Higiene para la Leche y los Productos Lácteos. 2004. Disponible en: http://www.fao.org/3/a-i2085s.pdf.
26. Rodas K, Pazmiño B, Rodas E, Cagua L, Núñez P, Coello R, et al. Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos comercializados en la ciudad de Milagro. Revista Cumbres [Internet]. 2016 [citado 17 Jul 2017];2(2):25-29. Disponible en: http://www.oaji.net/articles/2017/3933-1491599854.pdf.
27. Cabezas M. Enfermedades Transmitidas por Alimentos, una importante causa de morbilidad en nuestro País. Boletín Epidemiológico Dirección General de Epidemiología Perú. 2012 mayo; XIX (19): p. 1.
28. Rios C., Paris E., Bettini M., Repetto G. 2012. Manejo clínico de las intoxicaciones alimentarias. Ediciones Díaz de Santos. Argentina.
29. Otero A. 1990. Microorganismos patógenos en el queso. Industrias Lácteas Españolas. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
30. Resolución Ministerial N° 495 – 2008/MINSA: Aprueban Norma Sanitaria aplicable a la fabricación de alimentos envasados de baja acidez y acidificados destinados al consumo humano (Lima, 21/7/ 2008).
31. Ministerio de Salud de Perú, Dirección General de Salud Ambiental. NTS N°118-MINSA/DIGESA-V.01 “Norma Sanitaria que establece la Lista de Alimentos de Alto Riesgo (AAR)”. Perú. 2015.
32. Cedillos R, Guerra J. Determinación de la multirresistencia microbiana de *Staphylococcus aureus*, aislado a partir de diferentes fuentes que intervienen en la elaboración del queso fresco artesanal proveniente de dos queserías. [Trabajo de Graduación en Química y Farmacia]. Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia. San Salvador, El Salvador, Centro América; 2012.
33. Organización Mundial de la Salud (OMS). Informe de la OMS señala que los niños menores de 5 años representan casi un tercio de las muertes por enfermedades de transmisión alimentaria. 2015.

34. Rodríguez J, Borras L, Orlando M, García J. Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia. Rev. Cubana de Higiene y Epidemiologia. 2016; 53 (3).

35. Resolución Ministerial N° 495 – 2008/MINSA: Aprueban Norma Sanitaria aplicable a la fabricación de alimentos envasados de baja acidez y acidificados destinados al consumo humano (Lima, 21/7/ 2008).

36. Gabutti GA, De Donno R, Erroi D, Liaci F, Bagordo & Montagna MT. Relationship between indicators of fecal pollution and presence of pathogenic microorganisms in coastal seawaters. Journal of Coastal Research. 2004; 20: 846 – 852.

37. Larrea Murrell, Jeny Adina; Rojas Badía, Marcia María; Romeu Álvarez, Beatriz; Rojas Hernández, Nidia; Heydrich Pérez, Mercedes Mayra. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de calidad de las aguas: revisión de la literatura. La Habana, cuba, 2013.

38. Pelczar M. y Reid R. (1984) Microbiología Editorial Mc Graw – Hill. México, 2.

39. Farfán A, Ariza S, Vargas FA, Vargas L. Mecanismos de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Revista Chilena de Infectología. 2016; 33(4), 438–450. https ://doi.org/10.4067/s0716- 10182016000400009.

40. Yacarini – Martínez, Antero Enrique et al. Genes de virulencia de *Escherichia coli* detectados en muestras diarreicas de niños de la Región Lambayeque–Perú. Horizonte Médico (Lima), [S.l.], v. 19, n. 1, p. 7-12, mar. 2019. ISSN 2227-3530. Disponible en: http://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/716. Fecha de acceso: 27 oct. 2020 doi : https://doi.org/10.24265/horizmed.2019.v19n1.02

41. Ochoa T, Riveros M. Enteropatógenos de Importancia En Salud Pública. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2015; 32(1):157 – 64.

42. Michelli E, Millán A, Rodulfo H, Michelli M, Luiggi J, Carreño N & de Donato M. Identificación de *Escherichia coli* enteropatógena en niños con síndrome diarreico agudo del Estado Sucre, Venezue. Biomédica, 2016; 36(Sup1), 118 – 127. https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i0.2928.

43. Beutin L, Geier D, Steinrück H, Zimmermann S, Scheutz F. «Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga – like toxin)-producing Escherichia coli in seven different species of healthy domestic animals». *Journal of clinical microbiology*. 1993; 31 (9): 2483 – 8. PMC 265781. PMID 8408571.

44. Peton V, Le Loir Y. 2014. *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. Infect. Genet. Evol. 2014; 21, 602–615.

45. Hoekstra J, Rutten VP, Van den Hout M, Spaninks MP, Benedictus L, Koop G. Differences between Staphylococcus aureus lineages isolated from ovine and caprine

mastitis but not between isolates from clinical or subclinical mastitis. J. Dairy Sci. 2019; 102, 5430–5437.

46. Argudín MA, Mendoza MC, Rodicio MR. Food poisoning and Staphylococcus aureus enterotoxins. Toxins 2. 2010; 1751–1773.
47. Merda D, Felten A, Vingadassalon N, Denayer S, Titouche Y, Decastelli L, Hickey B, Kourtis C, Daskalov H, Mistou M.-Y. NAuRA: genomic tool to identify staphylococcal enterotoxins in Staphylococcus aureus Strains responsible for foodborne outbreaks. Front. Microbiol. 2020; 11, 1483.
48. Bhatia A, Zahoor. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: a review. J. Clin. Diagn. Res. 2007; 3, 188–197.
49. Schelin J, Wallin-Carlquist N, Thorup Cohn M, Lindqvist R, Barker. The formation of Staphylococcus aureus enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. Virulence. 2011; 2, 580–592.
50. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clin. Microbiol. 2000; Rev. 13, 16–34.
51. Evenson ML, Hinds MW, Bernstein RS, Bergdoll MS. Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal food poisoning involving chocolate milk. Int. J. Food Microbiol. 1988; 7, 311–316.
52. Tranter HS. Foodborne staphylococcal illness. Lancet (British edition). 1990; 336, 1044–1046.
53. Murray R. Recognition and management of Staphylococcus aureus toxin-mediated disease. Intern. Med. J. 2005; 35, S106–S119.
54. Fooladi AI, Tavakoli H, Naderi A. Iranian J. Microbiol. IJM. 2010; 2, 137.
55. Hennekinne J – A, De Buyser M – L, Dragacci S. Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol. Rev. 2012; 36, 815–836.
56. Ortega E, Abriouel H, Lucas R, Galvez A. Multiple roles of Staphylococcus aureus enterotoxins: pathogenicity, superantigenic activity, and correlation to antibiotic resistance. Toxins. 2010; 2, 2117–2131.
57. Zhang J, Wang J, Jin J, Li X, Zhang H, Zhao C. Prevalence, antibiotic resistance, and enterotoxin genes of Staphylococcus aureus isolated from milk and dairy products worldwide: a systematic review and meta-analysis. Int. Food Res. J. 2022; 111969.
58. Johler S, Weder D, Bridy C, Huguenin M – C, Robert L, Hummerjohann J, Stephan R. Outbreak of staphylococcal food poisoning among children and staff at a Swiss boarding school due to soft cheese made from raw milk. J. Dairy Sci. 2015; 98, 2944–2948.

59. Abril A, Gonzalez – Villa T, Barros – Velazquez J, Canas B, Sanchez – Perez A, CaloMata P, Carrera M. Staphylococcus aureus exotoxins and their detection in the dairy industry and mastitis. Toxins. 2020; 12, 537.
60. Robbins R, Gould S, Bergdoll M. Detecting the enterotoxigenicity of Staphylococcus aureus strains. Appl. Environ. Microbiol. 1974; 28: 946–950.
61. Feraudet Tarisse C, Goulard – Huet C, Nia Y, Devilliers K, Marc´e D, Dambrune, C, Lefebvre D, Hennekinne JA, Simon, S. Highly sensitive and specific detection of staphylococcal enterotoxins SEA, SEG, SEH, and SEI by immunoassay. Toxins. 2021; 13: 130.
62. Johnson W, Tyler S, Ewan E, Ashton F, Pollard D, Rozee K. Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in Staphylococcus aureus by the polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 1991; 29: 426–430.
63. Yin H, Fang T, Wen H. Combined multiplex loop-mediated isothermal amplification with lateral flow assay to detect sea and seb genes of enterotoxic. Staphylococcus aureus Letters in applied microbiology. 2006; 63, 16–24.
64. World Health Organization (WHO). Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases: Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group. 2015; 2007.
65. Scallan E, Jones TF, Cronquist A, Thomas S, Frenzen P, Hoefer D, Medus C, Angulo FJ, Group FW. Factors associated with seeking medical care and submitting a stool sample in estimating the burden of foodborne illness. Foodborne Pathogens. 2006; 3: 432–438.
66. Ikeda T, Tamate N, Yamaguchi K, Makino S. Mass outbreak of food poisoning disease caused by small amounts of staphylococcal enterotoxins A and H. Appl. Environ. Microbiol. 2005; 71, 2793–2795.
67. Raineri EJM, Altulea D & Van Dijl JM. Staphylococcal trafficking and infection – From ‘nose to gut’and back. FEMS Microbiology Reviews. 2022; 46(1), fuab041.
68. Márquez JG, García CE. Microflora patógena del queso blanco venezolano tipo telita elaborado en cuatro estados de Venezuela. An Venez Nutr. 2007; 20:17 – 21.
69. Chajęcka-Wierzchowska, W., Gajewska, J., Wiśniewski, P., & Zadernowska, A. (2020). Enterotoxigenic potential of coagulase-negative staphylococci from ready-to-eat food. Pathogens. 2020; 9(9): 734.
70. Omwenga I, Aboge G O, Mitema E S, Obiero G, Ngaywa C, Ngwili N, Wamwere G, Wainaina M & Bett B. Staphylococcus aureus enterotoxin genes detected in milk from various livestock species in northern pastoral region of Kenya. Food Control. 2019; 103, 126–132.
71. Papadopoulos P, Angelidis A S, Papadopoulos T, Kotzamanidis C, Zdragas A, Papa A, Filioussis G & Sergelidis D. Staphylococcus aureus and methicillin – resistant S. aureus (MRSA) in bulk tank milk, livestock and dairy-farm personnel in north-central and

northeastern Greece: Prevalence, characterization and genetic relatedness. Food Microbiology. 2019; 84, 103249.

72. Benkerroum N. Staphylococcal enterotoxins and enterotoxin-like toxins with special reference to dairy products: An overview. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2018; 58(12), 1943–1970.
73. Bhatia A & Zahoor S. Staphylococcus aureus enterotoxins: a review. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2007; 1(3), 188–197.
74. Zitzmann C, Schmid B, Ruggieri A, Perelson A S, Binder M, Bartenschlager R., & Kaderali, L. A coupled mathematical model of the intracellular replication of dengue virus and the host cell immune response to infection. Frontiers in Microbiology. 2020; 11, 725.
75. Asao T, Kumeda Y, Kawai T, Shibata T, Oda H, Haruki K, Nakazawa H & Kozaki. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. Epidemiology and Infection. 2003; 130(1): 33.
76. Grispoldi L, Massetti L, Sechi P, Iulietto MF, Ceccarelli M, Karama M, Popescu PA, Pandolfi F & Cenci – Goga B T. Characterization of enterotoxin-producing Staphylococcus aureus isolated from mastitic cows. Journal of Dairy Science. 2019; 102(2), 1059–1065.
77. Hassani S, Moosavy MH, Gharajalar SN, Khatibi SA, Hajibemani A & Barabadi Z. High prevalence of antibiotic resistance in pathogenic foodborne bacteria isolated from bovine milk. Scientific Reports 2022; 12(1), 3878. Hassanzadazar, H., Taami.
78. Zhang J, Wang J, Jin J, Li X, Zhang H, Shi X & Zhao C. Prevalence, antibiotic resistance, and enterotoxin genes of Staphylococcus aureusisolated from milk and dairy products worldwide: A systematic review and meta-analysis. Food Research International. 2022; 162, 111969.
79. Dehkordi, M. K., Shamsabadi, M. G., & Banimehdi, P. The occurrence of Staphylococcus aureus, enterotoxigenic and methicillin-resistant strains in Iranian food resources: A systematic review and meta-analysis. Annali di Igiene, Medicina Preventiva e di Comunita. 2019; 31(4), 263–278.
80. Khoramrooz, S. S., Mansouri, F., Marashifard, M., Malek Hosseini, S. A. A., Akbarian Chenarestane-Olia, F., Ganavehei, B., Gharibpour, F., Shahbazi, A., Mirzaii, M., & Darban-Sarokhalil, D. Detection of biofilm related genes, classical enterotoxin genes and agr typing among Staphylococcus aureus isolated from bovine with subclinical mastitis in southwest of Iran. Microbial Pathogenesis. 2016; 97, 45–51.
81. Havaei S A, Assadbeigi B, Esfahani BN, Hoseini N S, Rezaei N & Havaei S R. Detection of mecA and enterotoxin genes in Staphylococcus aureus isolates associated

with bovine mastitis and characterization of Staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec) in MRSA strains. Iranian Journal of Microbiology. 2015; 7(3), 161.

82. Nazari R, Godarzi H, Baghi F R, & Moeinrad M. Enterotoxin gene profiles among Staphylococcus aureusisolated from raw milk. Iranian Journal of Veterinary Research. 2014; 15(4), 409.

83. Oliveira, R., Pinho, E., Almeida, G., Azevedo, N. F., & Almeida, C. Prevalence and diversity of Staphylococcus aureus and staphylococcal enterotoxins in raw milk from Northern Portugal. Frontiers in Microbiology. 2022; 13, 703.

84. Capurro A, Aspán A, Ericsson Unnerstad H, Persson Waller K, Artursson K. Identifcation of potential sources of Staphylococcus aureus in herds with mastitis problems. J Dairy Sci. 2010; 93:180–91. https://doi.org/10.3168/ jds.2009-2471.

85. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. Staphylococcus aureus Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. Clin Microbiol Rev. 2015; 28: 603. https://doi.org/10. 1128/CMR.00134-14.

86. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Kattula D, Burkert F. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. World Heal Organ. 2013; 43:348–65. https://doi. org/10.1590/S0100-15742013000100018.

87. Schwabe CW. Veterinary Medicine and Human Health. 3rd ed. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1984.

88. Hubálek Z. Emerging Human Infectious Diseases: Anthroponoses, Zoonoses, and Sapronoses. Emerg Infect Dis. 2003; 9:403–4. https://doi.org/10. 3201/eid0903.020208.

89. Ruegg PL. Management of mastitis on organic and conventional dairy farms. J Anim Sci. 2009; 87:43–55. https://doi.org/10.2527/jas.2008-1217.

90. Palma E, Tilocca B, Roncada P. Antimicrobial resistance in veterinary medicine: An overview. Int J Mol Sci. 2020; 21:1914. https://doi.org/10.3390/ ijms21061914.

91. Silva V, Correia S, Rocha J, Manaia CM, Silva A, García-Díez J, et al. Antimicrobial Resistance and Clonal Lineages of Staphylococcus aureus from Cattle, Their Handlers, and Their Surroundings: A Cross-Sectional Study from the One Health Perspective. Microorganisms. 2022; 10:941. https://doi.org/10.3390/microorganisms10050941.

92. Richardson EJ, Bacigalupe R, Harrison EM, Weinert LA, Lycett S, Vrieling M, et al. Gene exchange drives the ecological success of a multi-host bacterial pathogen. Nat Ecol Evol. 2018; 2:1468–78. https://doi.org/10.1038/ s41559-018-0617-0.

93. Akkou M, Bouchiat C, Antri K, Bes M, Tristan A, Dauwalder O, et al. New host shift from human to cows within Staphylococcus aureus involved in bovine mastitis and nasal carriage of animal's caretakers. Vet Microbiol. 2018; 223:173–80. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.08.003.

94. D'Amico DJ. Recommendations and outcomes from the frst artisan cheese food safety forum. Food Prot Trends. 2017; 37:332–9.

95. D'Amico DJ, Donnelly CW. Characterization of Staphylococcus aureus strains isolated from raw milk utilized in small-scale artisan cheese production. J Food Prot. 2011; 74:1353–8. https://doi.org/10.4315/0362-028X. JFP-10 – 533.

96. World Health Organization (WHO). Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance in Foodborne Bacteria: Application of a One Health Approach. Geneva; 2017.

97. Brazil Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. Normative Instruction. 2004; 4. Technical Regulation forFixing the Identity and Quality of Minas Frescal Cheese. Diário Oficial da União, Brasília, Brazil. 2004; 5.

98. Salotti B M, Carvalho AC, Amaral LA, Vidal – Martins AMC, and Cortez AL. 2022. Microbial quality of marketable "Minas Frescal" cheese in Jaboticabal, SP, Brazil. Arq. Inst. Biol. (Sao Paulo) 73:171–175. https://doi.org/10.1590/1808-1657v7. 2022.

99. Ramos GLP, Nascimento JS, Margalho LP, Cruz AG and Sant'Ana AS. 2023. Quantitative risk assessment for type A staphylococcal enterotoxin poisoning due to consumption of Minas Frescal cheese in Brazil. Int. J. Dairy Technol. 76:214–225. https:/ /doi.org/10.1111/1471-0307.12924. 2023.

100. Fernández A, Ramos C, Monteiro V, Santos J, and Fernandes P. Virulence potential and antibiotic susceptibility of S. aureus strains isolated from food handlers. Microorganisms 10:2155. https://doi.org/10.3390/microorganisms10112155. 2022.

101. Gajewska J, Zakrzewski A, Chajęcka – Wierzchowska W, and Zadernowska A. Meta – analysis of the global occurrence of S. aureus in raw cattle milk and artisanal cheeses. Food Control 147:109603. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109603. 2023.

102. Calahorrano – Moreno MB, Ordoñez – Bailon JJ, Baquerizo Crespo RJ, Dueñas – Rivadeneira AA, Montenegro MC, and Rodríguez – Díaz JM. 2022. Contaminants in the cow's milk we consume? Pasteurization and other technologies in the elimination of contaminants. F1000Res. 11:91. https://doi.org/10.12688/ f1000research.108779.1.

103. Howden, B. P., S. G. Giulieri, T. Wong Fok Lung, S. L. Baines, L. K. Sharkey, J. Y. H. Lee, A. Hachani, I. R. Monk, and T. P. Stinear. *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation. Nat. Rev. Microbiol. 2023; 21:380–395. https://doi.org/10.1038/s41579-023 -00852-y.

104. Brazil Ministry of Health. National Health Surveillance Agency. Normative Instruction No. 161, of July 1, 2022. Diário Oficial da União, Brasília, Brazil, Jul. 2, 2022. Accessed Jan. 22, 2024. Disponible en: https: //antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_ .pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2.

105. Ribeiro Júnior J, Rodrigues E,Días B, da Silva E, Alexandrino B, Lobo C, Tamanini R, and Alfieri A. Toxigenic characterization, spoilage potential, and antimicrobial susceptibility of coagulase-positive Staphylococcus species isolated from Minas Frescal cheese. Journal of Dairy Science. 2024; 107 (3).
106. ISO (International Organization for Standardization). ISO 6888 – 1. Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs – Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-Positive Staphylococci (Staphylococcus aureus and Other Species) – Part 1: Technique Using Baird-Parker Agar Medium, International Organization for Standardization. 2003.
107. Costa, G. M., U. P. Pereira, D. A. C. Custódio, and N. Silva. Characterization of coagulase-positive Staphylococcus using plasmas from animal species. Rev. Inst. Adolfo Lutz 70:584–588. https: //doi.org/10.53393/rial.2011; 70: 32518.
108. Costa, G. M., L. V. Paiva, R. H. Piccoli, D. J. Figueiredo, U. P. Pereira, and N. Silva. Evaluation of a simplified key for the identification of coagulase-positive Staphylococcus isolated from bovine mastitis. Acta Sci. Biol. Sci. 32:403–406. https://doi.org/ 10.4025/actascibiolsci.v32i4.6276. 2010.
109. Ribeiro Junior, J. C., R. Tamanini, B. F. Soares, A. M. Oliveira, F. D. G. Silva, F. F. Silva, N. A. Augusto, and V. Beloti. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. Semin. Cienc. Agrar. 37:3069–3078. https://doi.org/10.5433/1679-0359 .2016v37n5p3069. 2016.
110. Mehrotra M, G. Wang, and WM Johnson. Multiplex PCR for detection of genes for Staphylococcus aureus enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. J. Clin. Microbiol. 2000; 38:1032–1035. https://doi.org/10.1128/ JCM.38.3.1032-1035.2000.
111. Ribeiro Júnior JC, AM de Oliveira, FG Silva, R. Tamanini, ALM de Oliveira, and V. Beloti. The main spoilagerelated psychrotrophic bacteria in refrigerated raw milk. J. Dairy Sci. 2018; 101:75–83. https://doi.org/10.3168/jds.2017-13069.
112. Barry, A. L., F. Garcia, and L. D. Thrupp. An improved singledisk method for testing the antibiotic susceptibility of rapidlygrowing pathogens. Am. J. Clin. Pathol. 1970; 53:149–158. https://doi .org/10.1093/ajcp/53.2.149.
113. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2020.
114. Sultana, H., H. Sattar, S. Tarafder, J. N. Sarker, T. H. Bhuiyan, M. Rahman, and A. Yusuf. Comparison of cefoxitin disc diffusion test, oxacillin disc diffusion test, oxacillin

screen agar and PCR for meca gene for detection of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Eur. J. Pharm. 2019; Med. Res. 6:136.

115. Murray E G D, Webb R A, Swann M B R. A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus: Bacterium monocytogenes (n.sp.). J Pathol Bacteriol. 1926; 29: 407 – 39.

116. Guillet C, Join – Lambert O, Le Monnier A, Leclercq A. Mechaï F, Mamzer – Bruneel M – F, Bielecka MK, Scortti M, Disson O, Berche P. Human listeriosis caused by Listeria ivanovii. Emerging infectious diseases. 2010; 16, 136.

117. FSANZ. Agents of Foodborne Illness. 2nd ed, Food Standards Australia New Zealand, Canberra. 2013.

118. ESR. Microbial Pathogen Data Sheets: Listeria Monocytogenes. New Zealand Food Safethy Authority (NZFSA), New Zealand Food Safethy Authority (NZFSA). 2001.

119. Lee J, Kyoung W, Hee Nam Ch, Ho Jung M, Han Kang J, Kyu Suh. A case of meningoencephalitis caused by Listeria monocytogenes in a healthy child. Korean J Pediatr. 2010; 53 (5): 653-6. doi: 10.3345/ kjp.2010.53.5.653.

120. Watson R. Listeriosis remains a cause for concern in Europe. Br Med J. 2009; 338: b319. doi: 10.1136/bmj.b319.

121. Little C, Amar C, Awofisayo A, Grant K. Hospital – acquired listeriosis associated with sandwiches in the UK: a cause for concern. J Hosp Infect. 2012; 82: 13-18. doi: 10.1016/j. jhin.2012.06.011.

122. Benadof D. *Listeria monocytogenes*. Rev Chilena Infect. 2008; 25 (5): 350. http://dx.doi. org/10.4067/S0716-10182008000500005.

123. Moledo de Vasconcelos R, Castro A, Ernesto Hofer E, Matías da Silva M, Marín V. Multiplex-PCR serotyping of Listeria monocytogenes isolated from human clinical specimens. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2008;103 (8): 836-8. http://dx.doi.org/10.1590/S0074- 02762008000800016.

124. Ramírez L, Morón de Salim A, Alfieri A, Gamboa O. Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de tomates (*Lycopersicum esculentum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) frescos en tres supermercados de Valencia, Venezuela. Arch Latinoam Nutrición. 2009; 59 (3): 318 – 24. Disponible en: https://www.alanrevista.org/ediciones/2009/3/ art-13/.

125. Camejo A, Carvalho F, Reis O, Leitão E, Sousa S, Cabanes D. The arsenal of virulence factors deployed by Listeria monocytogenes to promote its cell infection cycle. Virulence. 2011; 2 (5): 379 – 94. doi: 10.4161/viru.2.5.17703.

126. Jiwani S H, Wang Y, Dowd G, Gianfelice A, Pichestapong P H, Gavicherla B, et al. Identification of components of the host type IA phosphoinositide 3-kinase pathway that

promote internalization of Listeria monocytogenes. Infect Immun. 2012; 80 (3): 1252-66. doi: 10.1128/IAI.06082 – 11.

127. Torres – Vitela M R, Mendoza – Bernardo M, Castro – Rosas J, Gómez – Aldapa C A, et al. Incidence of Salmonella, Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157:H7, and Staphylococcal enterotoxin in two types of Mexican fresh cheeses. J Food Prot. 2012; 75 (1): 79-84. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-11- 258.

128. Lamond N, Freitag N. Vertical transmission of Listeria monocytogenes: Probing the balance between protection from pathogens and fetal tolerance. Pathogens. 2018; 7 (52): 1-14. doi: 10.3390/pathogens7020052.

129. Kimberlin D W, Brady M T, Jackson M A, Long S S. Red Book: Report of the Committee on Infectious Diseases. 30th ed. Elk Groove Village, IL, American Academy of Pediatrics, 2015; 513 – 6.

130. Castañeda-Ruelas G, Eslava-Campos C, Castro del Campo N, León-Félix J, Chaidez-Quiroz C. Listeriosis en México: importancia clínica y epidemiológica. Salud Publica Mex. 2014; 56: 654-9. http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/ v56n6/v56n6a16.pdf.

131. Miranda G, Orellana P, Dellien H Z, Switt M. Romboencefalitis por Listeria monocytogenes. Patología emergente en relación con el brote epidémico. Presentación de tres casos clínicos. Rev Med Chile. 2009; 137: 1602-6. http://dx.doi.org/10.4067/S0034- 98872009001200009.

132. Mansbridgea Ch, Grecua I, Li Voon Chonga J, Vanderveldea C, Saeeda K. Two cases of listeria rhombencephalitis. ID Cases. 2018; 11: 22-5. https://dx.doi.org/10.1016%2Fj. idcr.2017.12.002.

133. Remington J, Klein J. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. 5th ed. 2001; 1157 – 77.

134. Dhama K, Karthik K, Tiwari R, Shabbir MZ, Barbuddhe S, Malik SVS, Singh RK. Listeriosis in animals, its public health significance (food-borne zoonosis) and advances in diagnosis and control: a comprehensive review. Vet Q. 2015;35(4):211–235.

135. Ferroglio E. Listeria infections. In: Gavier – Widén D, Duff JP, Meredith A (eds.). Infectious diseases of wild mammals and birds in Europe. Chichester, United Kingdom: Blackwell Publishing. 2012; p. 413–416.

136. Swaminathan B, Gerner-Smidt P. The epidemiology of human listeriosis. Microbes Infect. 2007; 9(10): 1236–1243.

137. Vitullo M, Grant KA, Sammarco ML, Tamburro M, Ripabelli G, Amar CFL. Real-time PCRs assay for serogrouping Listeria monocytogenes and differentiation from other Listeria spp. Mol Cell Probes 2013; 27(1): 68–70.

138. Koch J, Dworak R, Prager R, Becker B, Brockmann S, Wicke A, WichmannSchauer H, Hof H, Werber D, Stark K. Large listeriosis outbreak linked to cheese made from pasteurized milk, Germany, 2006–2007. Foodborne Pathog Dis. 2010;7(12):1581–4.

139. Gaulin C, Ramsay D, Bekal S. Widespread listeriosis outbreak attributable to pasteurized cheese, which led to extensive cross-contamination affecting cheese retailers, Quebec, Canada, 2008. J Food Protect. 2012;75(1):71–8.

140. CDC: https://www.cdc.gov/foodsafety/outbreaks/lists/outbreaks-list.html. 2023.

141. Kaptchouang Tchatchouang CD, Fri J, De Santi M, Brandi G, Schiavano GF, Amagliani G, Ateba CN. Listeriosis Outbreak in South Africa: a comparative analysis with previously reported cases Worldwide. Microorganisms. 2020; 8(1).

142. Wei X, Hassen A, McWilliams K, Pietrzen K , Chung T, Méndez Acevedo M, Chandross – Cohen T , Dudley E, Vipham J, Mamo H, Sisay Tessema T, Zewdu A and Kovac J. Genomic characterization of Listeria monocytogenes and Listeria innocua isolated from milk and dairy samples in Ethiopia. Wei et al. BMC Genomic Data (2024) 25:12 https://doi.org/10.1186/s12863-024-01195-0.

143. IKeba A, Rolon ML, Tamene A, Dessie K, Vipham J, Kovac J, Zewdu A. Review of the prevalence of foodborne pathogens in milk and dairy products in Ethiopia. Int Dairy J. 2020;109:104762.

144. Pérez-Losada, Marcos; Cabezas, Patricia; Castro-Nallar, Eduardo; Crandall, Keith A (junio de 2013). «Pathogen typing in the genomics era: MLST and the future of molecular epidemiology». Infection, Genetics and Evolution (en inglés) (Vairão, Portugal) 16: 38-53. doi:10.1016/j.meegid.2013.01.009. Consultado el 9 de septiembre de 2013.

145. Duarte R, Casal S, Gomes A, Delgadillo I, Saraiva J. Nutritional and quality evaluation of hyperbaric stored fresh cheeses. Food Chemistry Advances 2 (2023) 100212.

146. Rodriguez J, Borras L, Orlando M, Garcia J. Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia. Rev. Cubana de Higiene y Epidemiologia. 2016; 53 (3). Abujnah et al. Bacteriological Quality and Incidence of Some Pathogenic Bacteria in Fresh White Cheese Sold in Tripoli, Libya. J Microb Biochem Technol. 2016; 8(4): 307 – 311.

147. Abujnah et al. Bacteriological Quality and Incidence of Some Pathogenic Bacteria in Fresh White Cheese Sold in Tripoli, Libya. J Microb Biochem Technol. 2016; 8(4): 307 – 311.

148. Cueva Laura Ana María. evaluación de la calidad microbiológica de los quesos frescos que se expenden en los mercados del Distrito de Tacna, Julio – Octubre, 2016. [¨Tesis pre grado]. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2016.

149. Vásquez A, Salhuana G, Jiménez D y Abanto R. evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. Ecología Aplicada. 2018; 17(1): 46 – 51.
150. Vasquez Valles, Maria Nelly. Calidad bacteriológica de que fresco artesanal comercializado en mercados del Distrito de Trujillo – La Libertad, Perú – 2019. Facultad de ciencias Biologicas, Universidad Nacional de Trujillo; 2019.
151. Ccaso Chua, Yosselin Yaneth. análisis microbiológico en relación a las condiciones higienicas sanitarias de expendio de quesos frescos comercializados en los mercados de la ciudad de Juliaca, 2020. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad María Auxiliadora; 2020.
152. Muftić E, Mušanović A, Fazlović N, Čaklovica K, Smajlović M, Magoda A, Gradaščević N, Smajlović Aand Članjak – Kudra E. Microbiological quality of Livno cheese. VETERINARSKA STANICA. 2024; 55 (4).

# VIII. ANEXOS

## 8.1 Muestreo de queso fresco

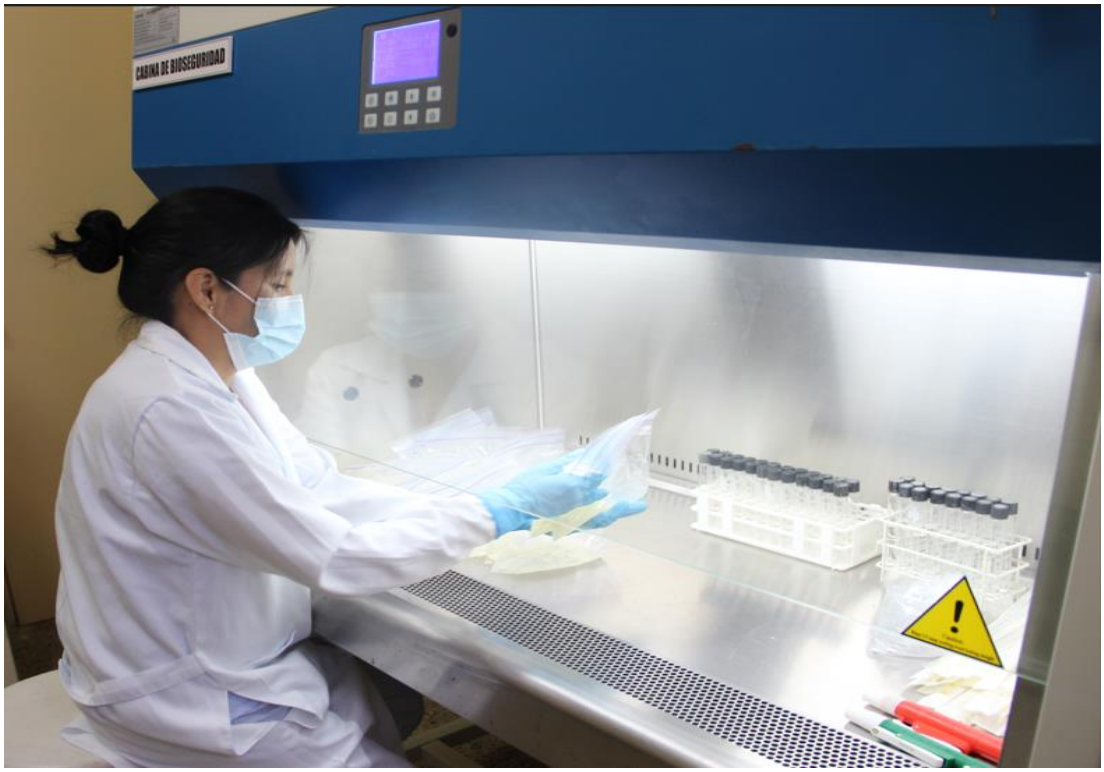
**Establecimiento del Mercado de Abasto**

**Establecimiento de La Parada**

## 8.2 Pesado de queso fresco y mezclado con agua peptonada al 0,1 %

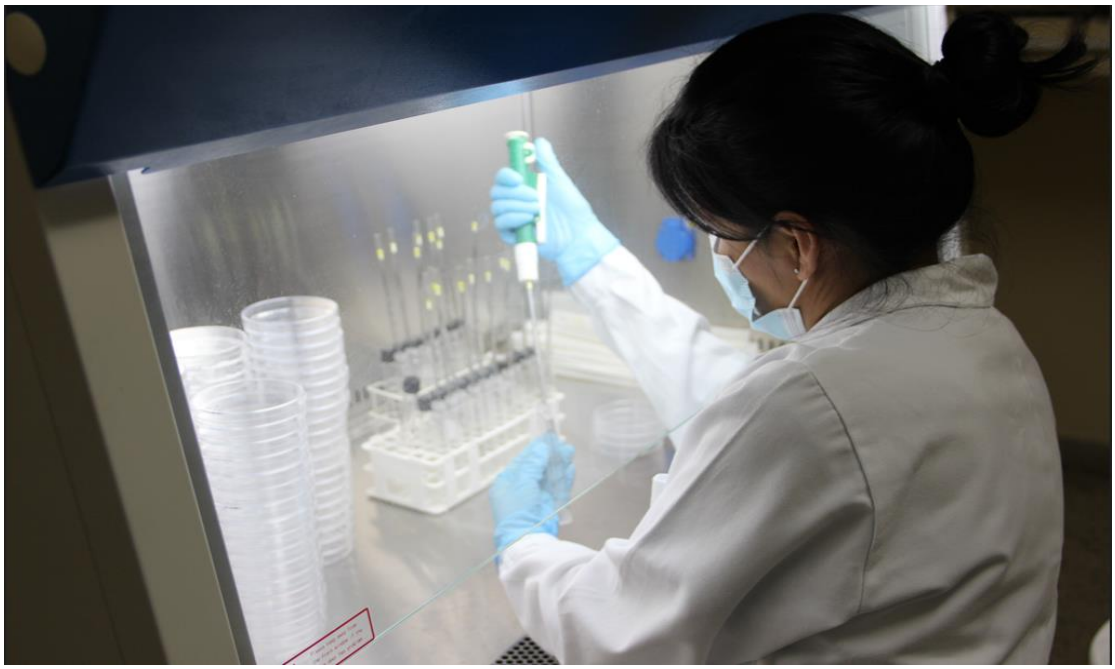
**Pesado de 10 g de queso fresco**

**Mezclado con 90 ml de agua peptonada al 0,1 %**



## 8.3 Diluciones decrecientes de las muestras y incubación de las placas

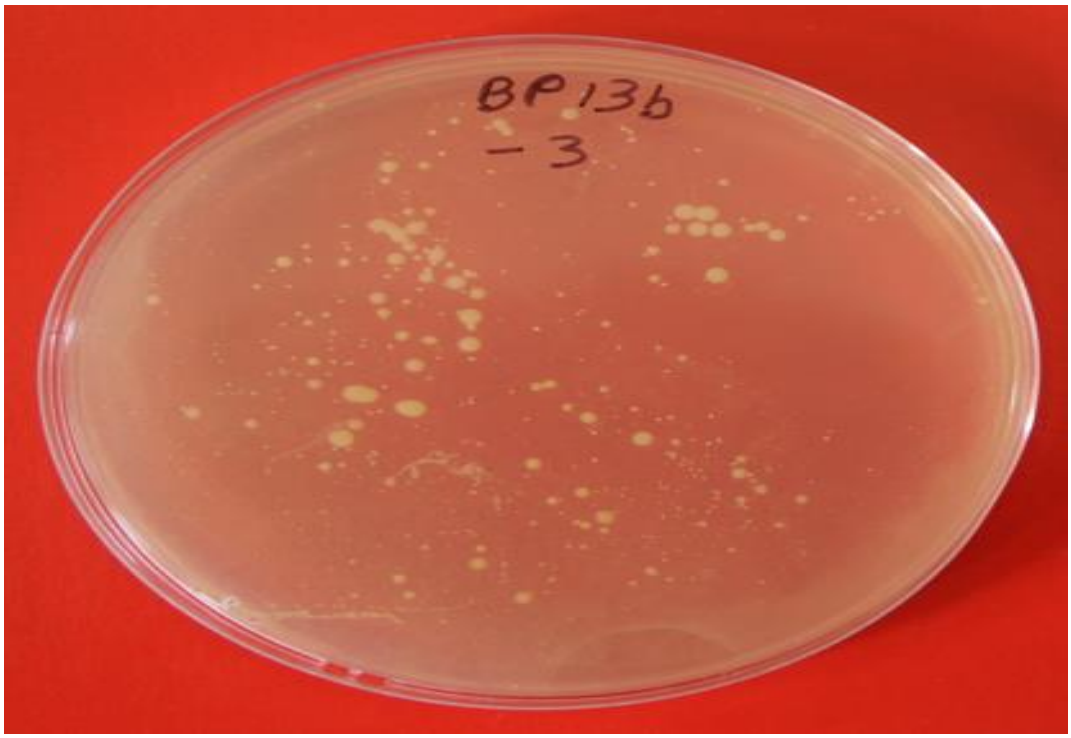
**Diluciones decrecientes de la muestra de queso fresco**

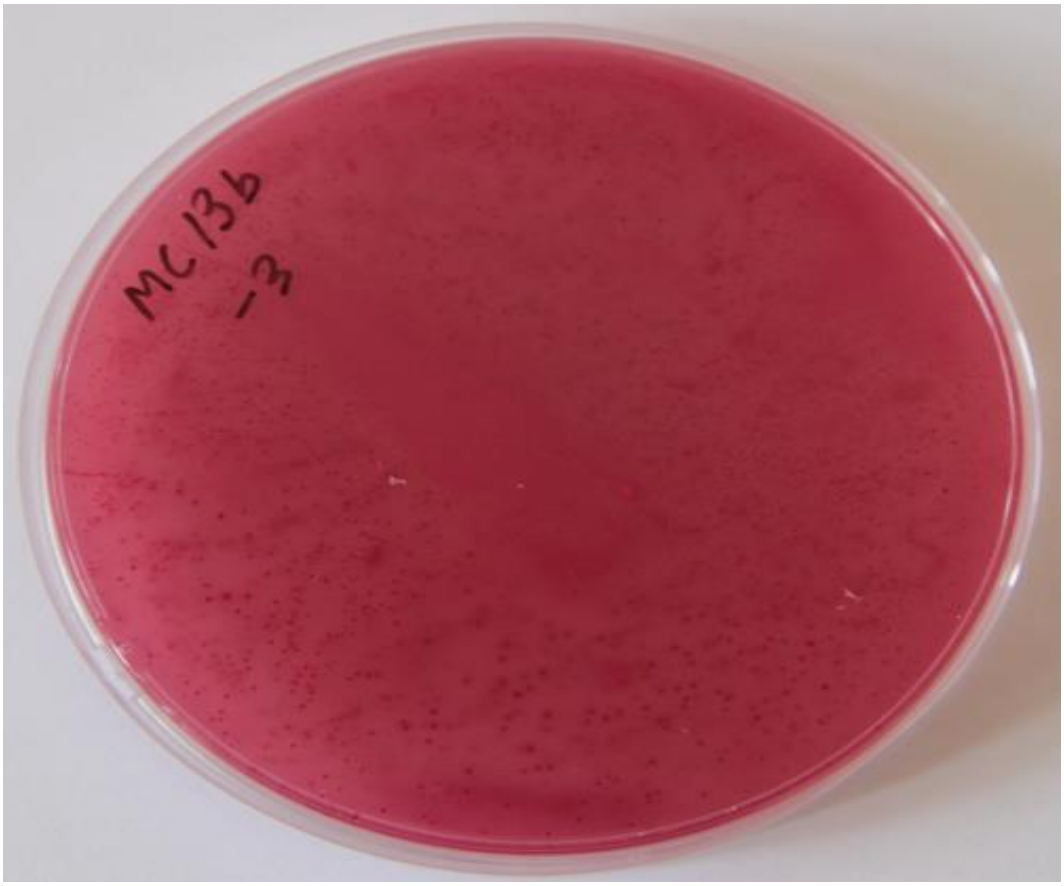


**Incubaciones de las placas petris para el aislamiento bacteriologico**

### 8.4 Colonias de *S. aureus* y *Escherichia coli*

***S. aureus***




***E. coli***