

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DEL QUESO FRESCO QUE SE EXPENDE EN UN MERCADO, DE LA CIUDAD DE RIOBAMBA

Microbiological analysis and antimicrobial resistance of fresh cheese sold at the market, city of Riobamba

	¹ Sandra Escobar*
	¹ Ana Albuja
	² Kleber Tene
	³ Henry Jara
	⁴ Jennifer Ramírez

¹ Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias/Facultad de Salud Pública, Carrera de Bioquímica y Farmacia/Carrera de Medicina, Grupo de Investigación de Leishmaniosis y otras parasitosis del Ecuador, Riobamba, Ecuador.

² Investigador Independiente, Riobamba, Ecuador.

³ Hospital Pediátrico Baca Ortiz, Quito, Ecuador.

⁴ Investigador Independiente; Riobamba, Ecuador.

*saescobar@esPOCH.edu.ec

RESUMEN

El objetivo fue conocer la calidad e inocuidad del queso fresco que se expende en un mercado de la Ciudad de Riobamba con la finalidad de establecer si es apto para el consumo humano, el nivel de resistencia bacteriana y las repercusiones en la salud del consumidor, siguiendo procedimientos y normativas nacionales e internacionales. Se analizó la presencia de *Staphylococcus aureus*, Coliformes totales y *Escherichia coli*, con recuentos en Placas Petrifilm 3M, el procedimiento se manejó con tres diluciones consecutivas, las mismas que se inocularon, incubaron, cuantificaron, se realizaron las pruebas confirmatorias en Placas Petri y antibiograma utilizando el método Kirby Bawer. Los resultados fueron: 1,3x10⁶ UFC/g de *Staphylococcus aureus*, 7x10⁵ UFC/g de *Escherichia coli* y 8,5x10⁵ UFC/g de Coliformes totales; después se comparó estadísticamente mediante el Test T de Student, demostrando que los valores sobrepasan los máximos permitidos para el consumo humano, lo cual indica una cadena agroalimentaria deficiente, en donde existe un gran nivel de contaminación del medio en el cual se procesan, transportan y expenden los quesos frescos, por ende se hace un llamado a las entidades municipales y gubernamentales de salud para que incluyan políticas de control y regulación.

Palabras Clave: análisis microbiológico, queso fresco, antibiograma, inocuidad, resistencia bacteriana.

ABSTRACT

The objective was to determine the quality and safety of fresh cheese sold in a market in the city of Riobamba in order to establish whether it is suitable for human consumption, the level of bacterial resistance and the repercussions on consumer health, following national and international procedures and regulations. The presence of *Staphylococcus aureus*, total coliforms and *Escherichia coli* was analyzed with counts in 3M Petrifilm Plates, The procedure was handled with three consecutive dilutions,



which were inoculated, incubated, quantified, and confirmatory tests were performed in Petri Plates and antibiogram using the Kirby Bawer method. The results were: 1.3×10^6 CFU/g of *Staphylococcus aureus*, 7×10^5 CFU/g of *Escherichia coli* and 8.5×10^5 CFU/g of total coliforms. Statistical comparisons were then performed using the Student's t-test. It was found that the levels exceed the maximum values allowed for human consumption, which indicates a deficient agri-food chain, where there is a high level of contamination of the environment in which fresh cheeses are processed, transported and sold. In this regard, a call is made to municipal and governmental health entities to include control and regulation policies.

Keywords: *microbiological analysis, cottage cheese, antibiogram, safety, bacterial resistance.*

I. INTRODUCCIÓN

En la ciudad Riobamba existe un mercado de gran popularidad y concurrencia, donde se comercializan muchos productos, como lácteos y sus derivados, procesados artesanalmente y de origen agrícola(1).

Un producto que es muy solicitado es el queso fresco, que se define como, “el producto que está dispuesto para el consumo al finalizar el proceso de fabricación”(2). Siendo éste el resultado de la coagulación y posterior amasado de la leche proveniente de bovinos sanos y exento de sustracción o adición de componentes extras excepto cuajo o sal. Mientras que la normativa NTE INEN 1528:2012 define al queso como el producto blando, semiduro, duro y extraduro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto, en el que la proporción entre las proteínas de suero y la caseína no sea superior a la de la leche, además que debe cumplir con las características tanto físicas, químicas y microbiológicas, asegurando así un producto inocuo y de calidad para el consumidor(3). Este producto es expandido por gran variedad de artesanos y vendedores ambulantes que se encuentran tanto al interior como al exterior del mercado en condiciones insalubres, que son elaborados con leche cruda sin ninguna medida de higiene, y en muchos de los casos no llevan ningún registro sanitario, tampoco se embalan en un material adecuado para su conservación y como resultado sin inocuidad, sumado a ello se los tiene en condiciones ambientales y no en cadena de frío, razón por la cual existe una elevada contaminación de microorganismos y al no haber un control adecuado en su elaboración, embalaje, almacenamiento y conservación ocasionan daños en la salud de los consumidores generando los ETAs (Enfermedades

Transmitidas por Alimentos)(4).

Según estimaciones cada año las enfermedades diarreicas de transmisión alimentaria o hídrica se cobran la vida de 2,2 millones de personas, en su mayoría niños(5). La primera estimación de la carga mundial de las enfermedades de transmisión alimentaria muestra que casi 1 de cada 10 personas enferman cada año al ingerir alimentos contaminados. Los niños menores de 5 años corren un riesgo particularmente grande y 125.000 niños mueren cada año de enfermedades de transmisión alimentaria (6), esto tomando en cuenta solamente los casos que se reportan a nivel mundial ante la OMS.

Un daño adyacente que se presenta con el uso inadecuado de antibióticos en los bovinos es la resistencia microbiana, la cual afecta tanto a los ganados como al consumidor final del derivado lácteo, en donde los microorganismos presentan una inmunidad ante los efectos de antibióticos, generando mayor frecuencia de infecciones que deben ser tratadas con fármacos de amplio espectro(7,8).

Por todo ello es importante conocer la calidad e inocuidad de los quesos frescos elaborados a partir de la leche cruda, que se expende en un mercado de la Ciudad de Riobamba con la finalidad de establecer si es o no apto para el consumo humano, además realizar el análisis microbiológico que permite evaluar la calidad sanitaria del producto, al cuantificar la carga microbiana en base a la Norma Técnica Ecuatoriana INEN como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y Coliformes totales, que son los principales causantes de las ETAs tales como las infecciones gastrointestinales, infecciones de las vías respiratorias altas, Salmonelosis, entre otras(9).

El estudio microbiológico permitirá conocer si el alimento es inocuo o no y por ende si es apto para el consumo humano, de acuerdo con las ordenanzas municipales está prohibido la venta de quesos frescos artesanales elaborados a partir de leche cruda, pero hasta la actualidad en diferentes mercados de Riobamba y del país siguen expendiendo este producto por ser considerado parte de la canasta básica, que de una u otra manera representan un peligro, debido a su inseguridad por las condiciones de elaboración.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Lugar de la investigación.

El estudio se llevó a cabo en un mercado muy concurrido de la ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo, lugar en el cual se tomaron las muestras de queso fresco para el análisis microbiológico, el mismo que fue realizado en los laboratorios de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH).

B. Período de la investigación

Las muestras de queso fresco fueron recolectadas durante varios días del mes mayo del 2016, los análisis tanto de recuento microbiano, como de resistencia bacteriana fueron llevados a cabo de manera inmediata tras la toma de muestra evitando que en el queso fresco proliferen mayor cantidad de microorganismos y evitando una contaminación cruzada.

C. Materiales, Equipos y Reactivos

Materiales
<ul style="list-style-type: none"> Alcohol Industrial, Alcohol Potable, Algodón, Asa y aguja de inoculación, Balones aforados. Cajas Petri, Cinta indicadora de esterilización, Cooler, Discos de antibióticos, Dispensor para placas Petrifilm. Estándar Mac Farland, Franela, Frascos de vidrio estériles, Gel refrigerante. Gradillas, Hisopos estériles, Lámpara de alcohol, Marcador permanente, Matraces Erlenmeyer. Parafilm, Pinza para discos, Pipeta automática de 1000 μL, Placas portaobjetos, Probeta. Puntas azules estériles, Regla, Reverbero, Solución salina estéril, Tego al 2%, Toallas absorbentes. Tubos de ensayo, Tubos Durhan.

Tabla 1. Materiales.

Medios de cultivo bacteriano	Equipos	Reactivos
<ul style="list-style-type: none"> Agar Eosina Azul de Metileno(EAM) Agar Estándar Métodos Agar Manitol Salado Agar Mueller Hinton Agua peptonada Placas Petrifilm 3M: E. coli/Coliformes y StaphExpress. 	<ul style="list-style-type: none"> Autoclave Balanza Cámara de flujo laminar Estufa Microscopio Refrigerador Cámara fotográfica 	<ul style="list-style-type: none"> Aceite de inmersión Agua destilada Kit para tinción Gram: cristal violeta, lugol, acetona y safranina. Disco de confirmación para <i>Staphylococcus aureus</i>.

Tabla 2. Equipos y reactivos.

Métodos

1) Recolección y transporte de muestras

Se llevó a cabo de acuerdo con la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4 para Leche y productos lácteos (10), al igual que el proceso de muestreo, se lo realizó tomando en cuenta las normas de asepsia para no contaminar el producto lácteo. Los quesos frescos, una vez realizada su adquisición se los colocó en una funda Zíploc previamente codificada con la fecha y el número asignado al punto de expendio, posteriormente se los ubicó en el Cooler con Frío Gel, para su transporte a los Laboratorios de Análisis Bioquímicos y Bacteriológicos de la Facultad de Ciencias- ESPOCH(11).

2) Preparación de la solución madre y diluciones

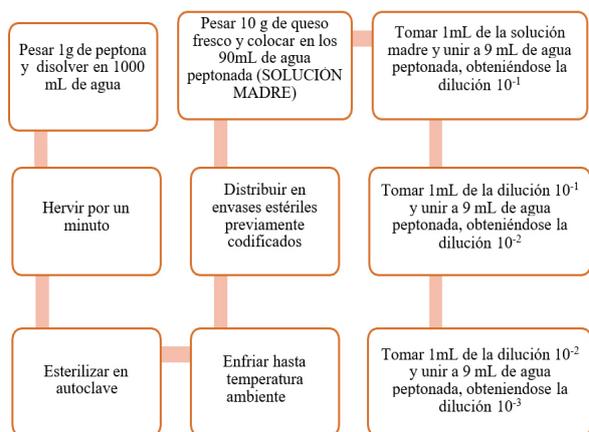


Figura 1. Preparación de agua peptonada y diluciones de la muestra.

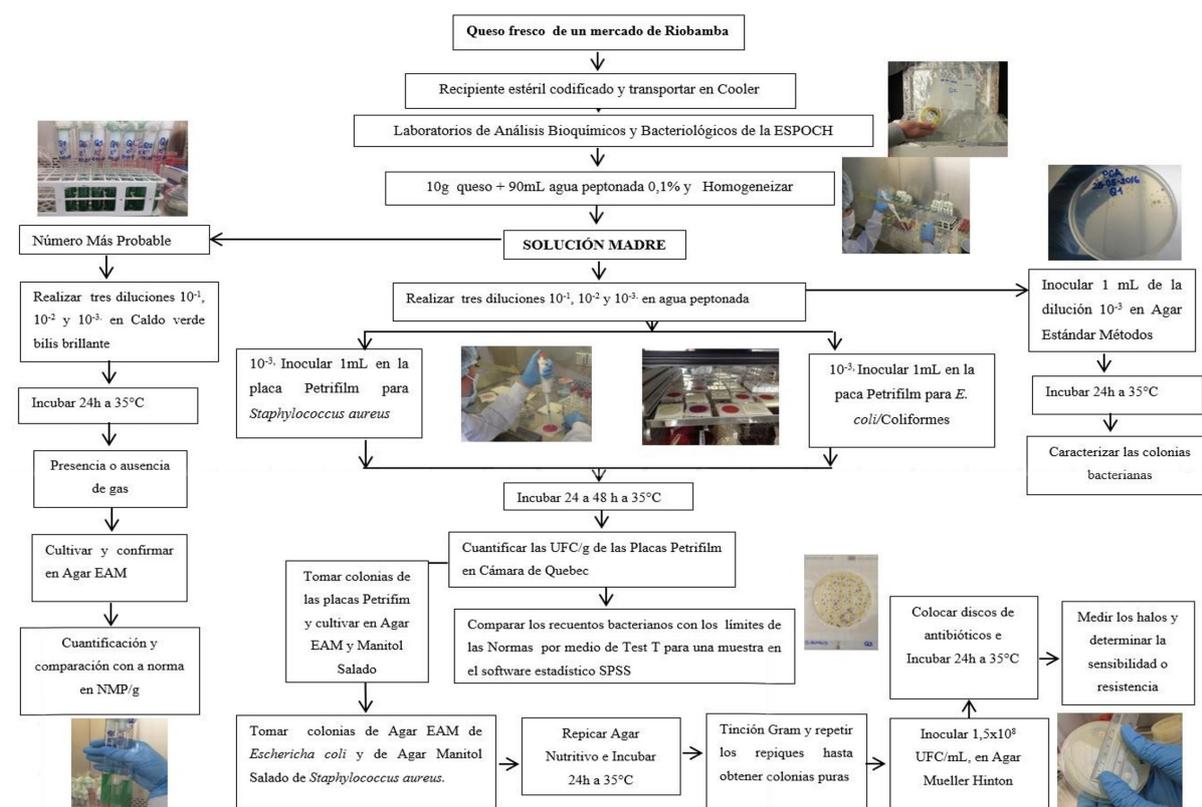


Figura 2. Metodología para el Análisis Microbiológico de queso fresco.

III. RESULTADOS

Una vez obtenidos los datos del recuento microbiano del queso fresco, se determinó la media de los muestreos de cada punto de expendio para su posterior comparación con los valores establecidos en la Norma NTE INEN 1528: 2012 Norma general para quesos frescos no madurados. Se realizó el análisis estadístico mediante la prueba del Test T-Student, se comparó con el valor referencial de la norma, lo cual permitió visualizar si es significativamente mayor. También se puede observar los resultados del antibiograma, el mismo que fue llevado a cabo por el método de Kirby Bauer, tanto para *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

A. Análisis Microbiológico del queso fresco.

Punto de expendio	Repetición	Staphylococcus aureus x10 ⁴ UFC/g	Coliformes totales x10 ⁴ UFC/g	Escherichia coli x10 ⁴ UFC/g
Q1	R1	160	60	20
	R2	200	160	120
	R3	180	160	140
Q2	R1	60	80	60
	R2	120	5	4
	R3	220	180	160
Q3	R1	220	160	140
	R2	300	120	100
	R3	60	20	18
Q4	R1	140	5	3
	R2	240	50	40
	R3	160	100	80
Q5	R1	240	140	120
	R2	160	160	140
	R3	17	5	4
Q6	R1	33	18	16
	R2	18	3	3
	R3	21	53	48
Q7	R1	100	140	120
	R2	46	160	140
	R3	43	8	6

Tabla 3. Análisis Microbiológico del queso fresco.

B. Staphylococcus aureus.

Punto de expendio	Repetición	Staphylococcus aureus x10 ⁴ UFC/g	Media x10 ⁴ UFC/g
Q1	R1	160	180
	R2	200	
	R3	180	
Q2	R1	60	133
	R2	120	
	R3	220	
Q3	R1	220	246
	R2	300	
	R3	60	
Q4	R1	140	180
	R2	240	
	R3	160	
Q5	R1	240	139
	R2	160	
	R3	17	
Q6	R1	33	24
	R2	18	
	R3	21	
Q7	R1	100	63
	R2	46	
	R3	43	

Tabla 4. Recuento de la microbiota analizada en Placas Petrifilm 3M Staph Express para Staphylococcus aureus.

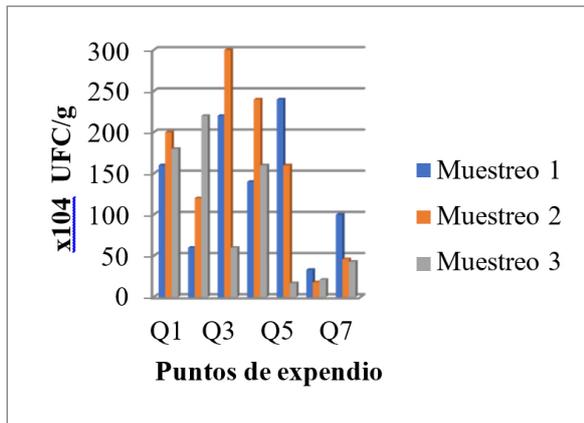


Figure 3. Recuento de Staphylococcus aureus en UFC/g.

C. Coliformes totales.

Punto de expendio	Repetición	Coliformes totales x10 ⁴ UFC/g	Media x10 ⁴ UFC/g
Q1	R1	60	126
	R2	160	
	R3	160	
Q2	R1	80	88
	R2	5	
	R3	180	
Q3	R1	160	100
	R2	120	
	R3	20	
Q4	R1	5	51
	R2	50	
	R3	100	
Q5	R1	140	101
	R2	160	
	R3	5	
Q6	R1	18	24
	R2	3	
	R3	53	
Q7	R1	140	102

Tabla 5. Recuento de la microbiota analizada en Placas Petrifilm 3M para Coliformes Totales.

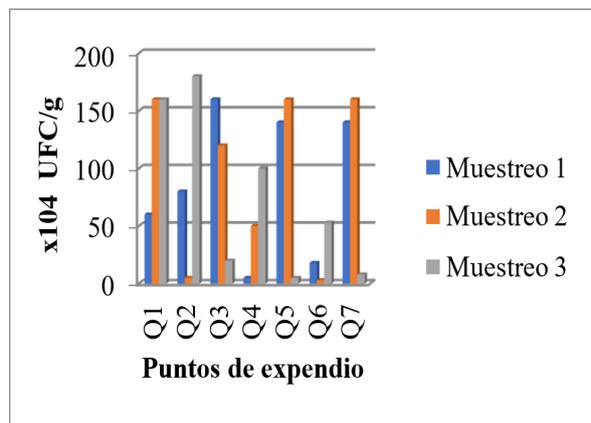


Figure 5. Recuento de Coliformes totales en UFC/g.

	Prueba de muestra única					
	Valor de prueba = 1000 UFC/g					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
				Inferior	Superior	
Staphylococcus aureus	6.859	20	0,00	1302809.524	906600.7150	1699018.333

Figure 4. Test T de Student para una muestra para Staphylococcus aureus.

	Prueba de muestra única					
	Valor de prueba = 500 UFC/g					
	t	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
				Inferior	Superior	
Coliformes totales	5.871	20	0,000	850452.3810	548311.8650	1152592.897

Figure 6. Test de Student para Coliformes totales.



D. Escherichia coli.

Punto de expendio	Repetición	Escherichia coli x10 ⁴ UFC/g	Media x10 ⁴ UFC/g
Q1	R1	20	93
	R2	120	
	R3	140	
Q2	R1	60	74
	R2	4	
	R3	160	
Q3	R1	140	86
	R2	100	
	R3	18	
Q4	R1	3	41
	R2	40	
	R3	80	
Q5	R1	120	88
	R2	140	
	R3	4	
Q6	R1	16	22
	R2	3	
	R3	48	
Q7	R1	120	88

Tabla 6. Recuento de la microbiota analizada en Placas Petrifilm 3M para *Escherichia coli*.

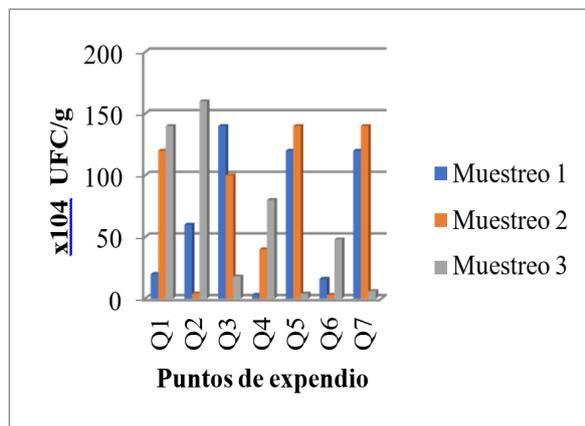


Figure 7. Recuento de *Escherichia coli* totales en UFC/g.

Prueba de muestra única						
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
					<i>Escherichia coli</i>	5.563

Figure 8. Test T de Student para una muestra para *Escherichia coli*.

E. Recuento de la microbiota analizada por la Técnica del Número Más Probable.

Punto de expendio	Número de tubos positivos por dilución			NMP por mL
	Dilución 10 ⁻¹	Dilución 10 ⁻²	Dilución 10 ⁻³	
Q1	3	3	2	1100
Q2	3	3	1	460
Q3	3	3	2	1100
Q4	3	3	2	1100
Q5	3	3	2	1100
Q6	3	3	1	460
Q7	3	3	2	1100

Tabla 7. Recuento de la microbiota analizada por la Técnica del Número Más Probable.

F. Prueba confirmatoria de Escherichia coli de NMP en Agar Eosina Azul de Metileno.

Punto de expendio	Repetición	Resultado
Q1	R1	+
	R2	+
	R3	+
Q2	R1	+
	R2	+
	R3	+
Q3	R1	+
	R2	+
	R3	+
Q4	R1	+
	R2	+
	R3	+
Q5	R1	+
	R2	+
	R3	+
Q6	R1	+
	R2	+
	R3	+
Q7	R1	+
	R2	+
	R3	+

Figure 8. Prueba confirmatoria de *Escherichia coli* de NMP en Agar Eosina Azul de Metileno.

G. Antibiograma de *Staphylococcus aureus*

Punto de expendio	Repetición	Penicilina	Gentamicina	Ampicilina	Estreptomina	Amoxicilina	Ácido nalidixico
Q1	R1	S	S	R	S	S	R
	R2	S	S	S	S	S	S
	R3	R	S	R	S	S	S
Q2	R1	R	S	R	S	S	S
	R2	R	S	S	S	S	R
	R3	R	S	R	S	S	S
Q3	R1	R	S	R	S	R	S
	R2	R	R	R	S	S	R
	R3	S	S	S	S	S	S
Q4	R1	R	S	R	R	S	R
	R2	R	S	S	S	S	S
	R3	S	S	R	S	R	S
Q5	R1	R	R	R	S	S	S
	R2	R	S	R	S	S	S
	R3	R	S	S	S	S	S
Q6	R1	R	R	R	S	R	S
	R2	R	S	R	S	S	S
	R3	R	S	R	S	S	S
Q7	R1	R	S	R	S	S	S
	R2	R	S	R	S	S	S
	R3	S	R	R	S	S	S
% Resistencia		76.2	19	76.2	4.8	14.3	19
% Sensibilidad		23.8	81	23.8	95.2	85.7	81

Tabla 9. Resultados del Antibiograma de *Staphylococcus aureus*.

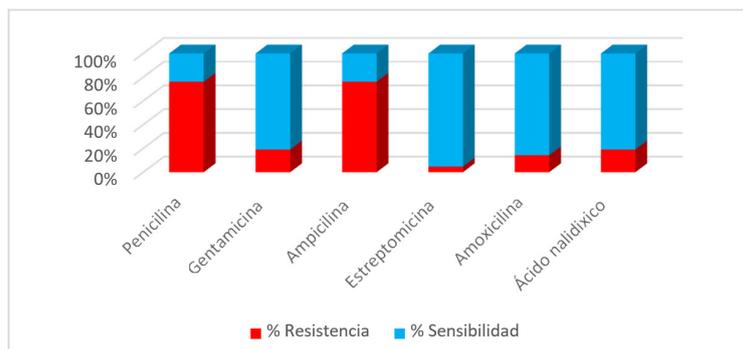


Figura 7. Nivel de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus aureus*.

H. Antibiograma de *Escherichia coli*

Punto de expendio	Repetición	Penicilina	Gentamicina	Ampicilina	Estreptomina	Amoxicilina	Ácido nalidixico
Q1	R1	S	S	R	R	R	S
	R2	R	S	S	S	R	S
	R3	R	S	S	S	S	S
Q2	R1	R	S	S	S	S	S
	R2	S	S	R	S	S	S
	R3	R	S	R	S	R	S
Q3	R1	R	S	S	S	S	S
	R2	R	S	S	S	S	S
	R3	S	S	S	S	S	S
Q4	R1	R	S	R	S	S	S
	R2	R	S	R	S	R	S
	R3	S	S	R	S	S	S
Q5	R1	R	R	R	S	R	S
	R2	R	S	R	S	R	S
	R3	R	R	R	S	R	S
Q6	R1	R	S	S	S	S	S
	R2	R	S	R	S	R	S
	R3	S	S	R	S	R	S
Q7	R1	R	S	R	S	R	S
	R2	R	S	R	S	R	S
	R3	R	S	R	S	R	S
% Resistencia		76.2	9,5	66.7	4,7	57.1	0
% Sensibilidad		23.8	90,5	33.3	95,3	42.9	100

Tabla 10. Resultados del Antibiograma de *Escherichia coli*

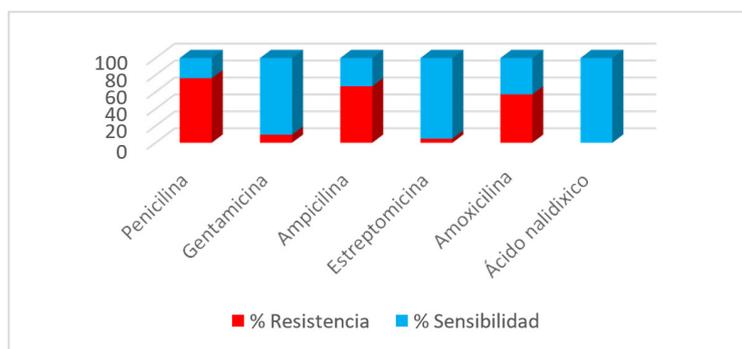


Figura 8. Nivel de sensibilidad y resistencia de *Escherichia coli*.

IV. DISCUSIÓN

Con base a los resultados obtenidos, en la tabla 3, se puede observar el recuento total de los microorganismos analizados en el queso fresco, siendo estos *Staphylococcus aureus*, Coliformes totales y *Escherichia coli*, todos ellos expresados en UFC/g de queso.

En la tabla 4, se detallan datos obtenidos del recuento microbiano de las cajas Petrifilm 3M Staph Express para *S. aureus*, el cual se resume en la figura 3, donde las medias de los recuentos de *S. aureus* van desde 24×10^4 hasta los 246×10^4 UFC/g, comparado con la Norma NTE INEN 1528 de 2012 establece que el índice máximo aceptable de calidad es de 1000 UFC/g lo cual indica claramente que todas las muestras al sobrepasar este valor no son aptas para el consumo humano. En la figura 4, se resume el Test T de Student para una muestra que permite comparar la media del grupo de recuentos de la microbiota de cada uno de los puntos de expendio analizados con el valor de referencia de 1000 UFC/g de queso siendo el índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad, los resultados del test muestran una Significancia de 0,000 que es menor a 0,05, concluyendo con un 95% de confianza que la cantidad de microorganismos son significativamente mayor al valor de referencia por lo que no es apto para el consumo humano. El nivel de contaminación registrada revela un inadecuado proceso, transporte y expendio de los quesos, por ende, se evidencia un deficiente manejo en las Buenas prácticas de higiene(12).

Un estudio similar publicado por Luján (13), quienes realizaron la evaluación de la presencia de *S. aureus* en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima – Perú, reportó que el 80 % de muestras estaban por encima del límite máximo permitido, además señalan que el alto

grado de contaminación alcanzado por este alimento proveniente del contacto con la piel, boca y fosas nasales de quienes manipularon el alimento. El *S. aureus*, según Figueroa (14) pueden llegar a los alimentos de muchas fuentes, la presencia en los alimentos se asocia a una inadecuada manipulación o al empleo de materias primas contaminadas (14). Tomando en cuenta los resultados ninguno de los quesos frescos se encuentra con una carga microbiana permitida por la norma INEN 1528, por lo que no se consideran aptos para el consumo humano, ya que su presencia pone en alerta la sanidad alimentaria por la producción de toxinas que contribuyen a su patogenicidad al aumentar su capacidad de invadir y dañar tejidos(15).

En cuanto a los recuentos obtenidos de los cultivos de Coliformes totales en Placas Petrifilm, detallados en la tabla 5, y resumido en la figura 5, donde se observa que los recuentos van desde 24×10^4 hasta los 126×10^4 UFC/g, lo cual supera notablemente lo establecido en la Norma Nicaragüense NTON 03 022 – 99 (16), de quesos frescos no madurados en donde el límite para Coliformes totales es 500 UFC/g. Mientras que según los resultados del Test de Student, dados en la figura 6, el valor de significancia fue de 0,000, lo cual indica que los valores obtenidos son significativamente mayores al valor de 500 UFC/g, evidenciándose que el nivel de coliformes totales se debe a la contaminación por desperdicios cloacales y posible presencia de bacterias entéricas patógenas. Resultados similares fueron encontrados en estudios realizados por Díaz y González (10), en donde el *S. aureus* en los quesos evaluados excedían el criterio microbiológico para Coliformes Totales y Fecales en 97,22% y 98,61 %, respectivamente (17).

Los datos obtenidos para *Escherichia coli*, se muestran en la tabla 6 y en la figura 7 se resume el recuento obtenido que en base a la Norma NTE INEN 1528, en la cual enuncia que el Índice Máximo Permisible de *E. coli* es de 10 UFC/g, valor que ha sido sobrepasado por todas las muestras de queso fresco analizados, esto es un claro indicio de la calidad del queso fresco expendido y el peligro biológico que representa para la población que lo consume. Según lo expuesto en la figura 8, tras la realización del Test T Student con un nivel de significancia de 0,000 el cual es menor a 0,05 se puede decir que los valores de los recuentos de *E. coli* son significativamente mayores al valor de la norma, por ende, no son aptos para el consumo(18). *Escherichia coli* en muestras alimenticias y en este caso lácteas es un indicativo de contaminación fecal especialmente por las deficientes condiciones higiénicas en las que se elaboran los quesos frescos además de las técnicas de ordeño, la limpieza de la piel de los pezones, manos del ordeñador y pezoneras(19). Nuestro estudio concuerda con investigaciones realizadas en Bolivia en donde Mariscal (20), reportaron que el 100% de las muestras de queso fresco que se expenden en los mercados de abasto de Trinidad presentaron valores mayores al nivel aceptado para *Escherichia coli*. Esto indica claramente la importancia de la pasteurización de la leche para la elaboración del queso fresco (20).

La realización de la técnica del Número Más Probable según lo indicado en la tabla 7, confirma la presencia y recuento del análisis realizado por las placas Petrifilm para Coliformes ya que al igual que estas en todos los casos dio positivo con recuentos elevados muy por encima de los valores permitidos por la Norma mexicana NOM-243-SSA1-2010(21), la misma que menciona 10 NPM/g. Como podemos observar los resultados están desde los 460 a los 1100 NMP/g, superando en todos los casos el máximo permitido por la norma, resultados similares fueron presentados, por Dávila (22), en donde se analizó la calidad microbiológica de la materia prima para la elaboración de queso, encontrándose el recuento de Coliformes totales elevados, oscilando entre 4.6×10^4 NMP/mL y $2,4 \times 10^5$ NMP/mL, indicativo de posibles malas prácticas de manipulación en el ordeño del ganado vacuno y una inadecuada refrigeración inmediatamente después que se ha obtenido la misma (22).

Posteriormente, se llevó a cabo la confirmación a través de la siembra del inóculo de los tubos en

Agar Eosina Azul de Metileno, medio de cultivo específico para el crecimiento de *Escherichia coli*, como se observa en la tabla 8, todos dieron positivo al presentar crecimiento de colonias de color verde metálico característico de *E. coli*, lo cual indica que son microorganismos fermentadores de lactosa y por ende la producción de gas en el Tubo Durhan (23).

En cuanto a los resultados obtenidos del antibiograma, como se puede observar en la tabla 9 y figura 9, para *Staphylococcus aureus* presenta resistencia significativa a 2 antibióticos siendo estos penicilina y ampicilina, en ambos casos con un porcentaje de resistencia del 76.2 % de las muestras, ambos antibióticos pertenecen al grupo de los *Betalactámicos*, lo cual indica una estructura similar y familiaridad entre estos, facilitando a los microorganismos el desarrollo de resistencias para el mismo grupo. Para antibióticos como estreptomycin, amoxicilina, gentamicina y ácido nalidixico el *S. aureus*, presentó un nivel de resistencia mínimo es decir muy pocas muestras alcanzando un promedio del 14%, por lo tanto, se desea concientizar a la población ganadera de la provincia y el país a utilizar dichos medicamentos de forma racional y solo bajo la supervisión de un veterinario (24).

El estudio realizado por Cholca (14), de los antibióticos empleados en ganado expone que una de las familias de antibióticos empleados con mayor frecuencia corresponde a los *betalactámicos* (39%) grupo dentro del cual se encuentra la penicilina y ampicilina, manifestándose además que ya existe evidencia de resistencia a este grupo de medicamentos (25).

En la tabla 10 y figura 10, se detalla el nivel de sensibilidad y resistencia de *Escherichia coli* observándose, la cantidad de muestras que presentaron resistencia (color rojo), siendo las más significativas para Penicilina, Ampicilina y Amoxicilina con un promedio del 66.6%, todos estos antibióticos pertenecen a grupo de los *betalactámicos* siendo estos los más utilizados en muchos casos de manera irracional, razón por la cual en ambos casos presentan la mayor resistencia bacteriana. La *Escherichia coli* ante la gentamicina, ácido nalidixico y estreptomycin presentó un alto nivel de sensibilidad, estos antibacterianos generalmente no son usados por los ganaderos en el caso de infecciones mastíticas, de vías urinarias, respiratorias o del tracto gastrointestinal, lo que explica su



alta sensibilidad a estos fármacos. Trabajos de investigación como los de Máttar (26), para evaluar la sensibilidad a antibióticos se emplearon 371 muestras de las cuales se aisló *E. coli* en un 3.8%. Los porcentajes de resistencia de *Escherichia coli*, en donde demostraron el 86% de resistencia para ampicilina, 57% a kanamicina, y un 93% para penicilina (26).

V. CONCLUSIONES

- Se realizó el análisis microbiológico de los quesos frescos que se expenden en un mercado de la ciudad de Riobamba, donde se determinó que no son aptos para el consumo humano debido a los recuentos elevados de la microbiota encontrada, para Coliformes totales $8,5 \times 10^5$ UFC/g, *Staphylococcus aureus* $1,3 \times 10^6$ UFC/g y *Escherichia coli* 7×10^5 UFC/g, encontrándose todos por encima del máximo permisible por la norma NTE INEN 1528:2012, la cual indica para *Staphylococcus aureus* 10^2 UFC/g, para *Escherichia coli* 10 UFC/g, y el valor establecido para Coliformes totales por la Norma Nicaragüense NTON 03 022 - 99 Norma de quesos frescos no madurados en donde el límite es 500 UFC/g, los valores hallados indican claramente una cadena agroalimentaria deficiente, en donde existe un gran nivel de contaminación por parte del medio en el cual se procesan, transportan y expenden los quesos frescos, y siendo causantes de las ETAs (Enfermedades de Transmisión Alimentaria).
- Se comparó entre los recuentos y los valores establecidos en las respectivas Normas por medio del Test T Student en el Software

VI. REFERENCIAS

1. Andrade C, Ayaviri D. Demanda y Consumo de Productos Orgánicos en el Cantón Riobamba, Ecuador. Información tecnológica. 2018;29(4): 217–26.
2. Gil Á. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Madrid-España: Médica Panamericana; 2010, 1(3): 8–12.
3. Instituto Ecuatoriano de Normalización (NTE INEN). Norma general para quesos frescos no madurados 1528:2012. Quito-Ecuador; 2012.
4. Fernández S, Marcía J. Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar. 2021 May;5(2):2284–98.
5. Organización Mundial de La Salud (OMS). Inocuidad de los alimentos. Enfermedades de transmisión alimentaria. Ginebra-Suecia.; 2016.
6. 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. Ginebra-Suecia; 2015.

Estadístico SPSS Statistics de IBM, el cual indicó que todos los recuentos de los microorganismos se encuentran significativamente por encima de los Índices máximos permisibles para el consumo humano.

- Se llevó a cabo el antibiograma en donde las cepas de *Staphylococcus aureus* presentaron resistencia a penicilina y ampicilina en un 76,2% de las muestras y sensibilidad a gentamicina, estreptomina, amoxicilina y ácido nalidíxico en un promedio del 14%, lo que indica un nivel de resistencia bacteriana a los *Betalactámicos* los cuales son los más empleados en vacunos ante la presencia de infecciones y como no requieren de una prescripción por un veterinario son fáciles de adquirir, por lo que se presta para su uso irracional.
- Las cepas *Escherichia coli* encontradas en el queso fresco presentaron resistencia a penicilina en un 76,2%, ampicilina en un 66,7% y amoxicilina en un 57,1%, mientras que son sensibles a gentamicina en 90,5%, estreptomina en 95,7% y ácido nalidíxico en un 100% de las muestras analizadas.

VI. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Municipio de Riobamba por la apertura para el desarrollo de investigación, la colaboración de la Dra. Ana Albuja, Dra. Sandra Escobar, Dra. Verónica Cando miembros del Grupo del Investigación LEISHPAREC, BQF. Alexandra Trujillo y a los estudiantes de la carrera de Bioquímica y Farmacia Sr. Kleber Tene y la Srta. Laura Hernández y a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

7. Gatica M de los A, Rojas H. Gestión sanitaria y resistencia a los antimicrobianos en animales de producción. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2018 Mar 27;35(1):118.
8. Organización Mundial de la Salud (OMS). Dejemos de administrar antibióticos a animales sanos para prevenir la propagación de la resistencia a los antimicrobianos [Internet]. 2017 [citado 2022 Dic. 17]. p. 1. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/07-11-2017-stop-using-antibiotics-in-healthy-animals-to-prevent-the-spread-of-antibiotic-resistance>
9. Soto Z, Pérez L. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos. *Salud Uninorte*. 2016 Jan 15;32(1):105–22.
10. NTE INEN. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 4 para Leche y productos lácteos. <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/4-1.pdf>. 2009.
11. CODEX. Código de prácticas de higiene para la leche y los productos lácteos. In: *Leche y Productos Lácteos* [Internet]. 2nd ed. 2009 [citado 2022 Dic. 17]. p. 9–12. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/CODEX-57.pdf>
12. Merchán N. Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas. *Revista chilena de nutrición*. 2019;46(3):288–94.
13. Luján D, Valentín M. Evaluación de la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales en tres distritos de Lima–Perú. *Revista Salud Pública y Nutrición*. 2006;7(<https://www.medigraphic.com/cgibin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=13245>):1–6.
14. Figueroa G, Navarrete P. Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos en manipuladores de alimentos. *Rev Med Chil*. 2002;130(8):859–64.
15. Camussone C, Calvino F. Factores de virulencia de *Staphylococcus aureus* asociados con infecciones mamarias en bovinos: relevancia y rol como agentes inmunógenos. *Rev Argent Microbiol*. 2013;45(2):119–30.
16. Norma NTON 03 022 – 99. características y especificaciones de quesos frescos o no madurados. [Internet]. Nicaragua. 2015 [citado 2022 Dic]. p. 5–7. Disponible en: <https://www.ipsa.gob.ni/Portals/0/1%20Inocuidad%20Alimentaria/Normativas%20Generales/ACTUALIZACION>
17. Díaz R, González B. *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. *RESPYN Revista Salud Pública Y Nutrición*. 2001;2(<https://respyn.uanl.mx/index.php/respyn/article/view/68>):1–9.
18. Vásquez V. Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecología Aplicada*. 2018;17(1):45.
19. Guillén L, Millán B, Araque M. Caracterización molecular de cepas de *Escherichia coli* aisladas de productos lácteos artesanales elaborados en Mérida, Venezuela. *Infectio*. 2014 Jul;18(3):100–8.
20. Miranda García MC. *Escherichia coli* portador de betalactamasas de espectro extendido: resistencia. *Sanidad Militar*. 2013;69(4):244–8.
21. NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos [Internet]. 2010 [citado 2022 Dic. 17]. p. 6–7. Disponible en: <https://dof.gob.mx/normasOficiales/4156/salud2a/salud2a.htm>
22. Dávila J, Reyes G. Evaluación Microbiológica de las Diferentes Etapas del Proceso de Elaboración de Queso Tipo Gouda en una Industria Venezolana. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2006;52(<http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222006000100008> & script=sci_arttext):51–9.
23. Ramírez J. Manual de laboratorio de microbiología. In: *Facultad de Química Farmacéutica Biológica* [Internet]. 1st ed. 2018 [citado 2022 Dic. 17]. p. 22–6. Disponible en: <https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Microbiologia.pdf>
24. Torres S, Pacheco K. *Staphylococcus aureus* resistentes a metilina en alimentos. *Revista Vive*. 2021 Dec 13;4(12):457–69.
25. Cholca G, Emerita S. Análisis de la situación del uso de medicamentos (antibióticos y antiparasitarios) en las unidades productivas de los centros de acopio y enfriamiento de leche Sto. Domingo No1 y Puliza. [Quito-Ecuador]: Universidad Politécnica Salesiana; 2012.
26. Máttar S, Calderón A. Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema de Salud Pública. *Revista de Salud Pública*. 2009;11(http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0124-00642009000400009):579–90.