

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**Calidad microbiológica de quesos frescos que se expenden en los  
mercados de Chachapoyas, Perú, 2023**

**Autor:** Dra. Flor Teresa García Huamán

**Código:** VRIN- DITT-2023-001 -AS-FTGH

**DEDICATORIA**

*A TODOS LOS COMPROMETIDOS CON LA  
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y LA EDUCACIÓN*

## **AGRADECIMIENTO**

A las autoridades de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas por permitirnos el uso del Laboratorio de Tecnología Agroindustrial y el Laboratorio de Postcosecha.

Al personal administrativo, técnico y estudiantes de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias por su apoyo en la realización de la investigación.

A mis amigos, colegas y compañeros de trabajo, de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, por las acertadas sugerencias en el desarrollo de la presente investigación.

## ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIAL Y MÉTODO	8
2.1 Muestra Biológica.	8
2.2 Identificación de los puntos de muestreo.	8
2.3 Preparación de medios de cultivo.	9
2.4 Determinación de peso, pH y humedad.	9
2.5 Determinación y recuento de coliformes totales.	10
2.6 Determinación y recuento de coliformes fecales.	10
2.7 Recuento e identificación de <i>Escherichia coli</i> .	11
2.8 Recuento de bacterias aerobias mesófilas viables.	12
2.9 Identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> .	13
2.10 Aislamiento de Enterobacterias.	14
2.11 Aislamiento e identificación de Salmonella y Shiguella.	16
2.12 Aislamiento e identificación de <i>Listeria monocytogenes</i> .	17
III. RESULTADOS	19
IV. DISCUSIÓN	25
V. CONCLUSIONES	30
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
<b>ANEXOS:</b>	33
Anexo 1: Evaluación de procedencia, ph y humedad.	34
Anexo 2: Evaluación Microbiológica.	36
Anexo 3: Tratamiento estadístico de Recuento de Bacterias Aerobias mesófilas viables.	39
Anexo 4: Fotos de Aislamiento, identificación y recuento de bacterias.	41

# Calidad microbiológica de quesos frescos que se expenden en los mercados de Chachapoyas, Perú, 2023

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la calidad microbiológica de los quesos frescos artesanales que se comercializan en la ciudad de Chachapoyas, región Amazonas. Las muestras biológicas fueron 60 quesos frescos artesanales recolectados en tres muestreos. Se siguieron los métodos microbiológicos para identificación, aislamiento y recuento de bacterias. Los resultados muestran que el promedio del recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viabiles de los quesos analizados es  $6.4 \times 10^8$  a  $7.1 \times 10^8$  UFC/g. En el 100% de las muestras analizadas se encontró Coliformes totales, Coliformes fecales, *Escherichia coli*, Enterobacter, Citrobacter, *Staphylococcus aureus* y en el 100% de las muestras no se encontró *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* ni *Listeria Monocytognes*. En relación al recuento bacteriano se encontró que existe diferencia significativa entre los mercados mayorista 1 y mayorista 2 no existiendo diferencia entre ellos con el mercado Modelo y mercado Yance. Se concluye que la calidad microbiológica de quesos frescos que se expenden en los mercados de Chachapoyas no es la adecuada para Coliformes Totales y Fecales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, porque supera los límites máximos permitidos por la Resolución Ministerial N°591-2008-MINSA y la Norma Técnica sanitaria N° 071-MINSA/DIGESA, sin embargo, si cumple con los valores establecidos para, *Listeria monocytógnos* y *Salmonella sp.*

Palabras clave: Calidad microbiológica, quesos, coliformes, enterobacterias

**Microbiological quality of fresh cheeses that are sold in the markets of Chachapoyas,  
Peru, 2023**

**ABSTRACT**

The objective of this research was to evaluate the microbiological quality of fresh artisanal cheeses sold in the city of Chachapoyas, Amazonas region. The biological samples were 60 fresh artisanal cheeses collected in three samplings. Microbiological methods were followed for identification, isolation and counting of bacteria. The results show that the average count of Viable Mesophilic Aerobic Bacteria of the cheeses analyzed is  $6.4 \times 10^8$  to  $7.1 \times 10^8$  CFU/g. Total coliforms, fecal coliforms, *Escherichia coli*, Enterobacter, Citrobacter, *Staphylococcus aureus* were found in 100% of the samples analyzed and *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Listeria Monocytognes* were not found in 100% of the samples. In relation to the bacterial count, it was found that there is a significant difference between wholesale markets 1 and wholesale 2, with no difference between them with the Modelo market and the Yance market. It is concluded that the microbiological quality of fresh cheeses sold in the Chachapoyas markets is not adequate for Total and Fecal Coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, because it exceeds the maximum limits allowed by Ministerial Resolution No591-2008-MINSA and the Sanitary Technical Standard No 071-MINSA/DIGESA, however, if it complies with the values established for *Listeria monocytógenes* and *Salmonella sp.*

Keywords: Microbiological quality, cheeses, coliforms, enterobacteria.

## I.-INTRODUCCIÓN

El queso es una fuente de nutrientes esenciales para el desarrollo y crecimiento de los niños en áreas rurales, donde la ingesta de aminoácidos, vitamina A, vitamina B12, calcio, fósforo y los ácidos grasos poliinsaturados pueden ser limitados. La elaboración de queso artesanal debe expandirse para mejorar el estado nutricional de las personas a bajo costo, estimular la economía local y empoderar a los pequeños agricultores (Nyamakwere, et al., 2021).

De acuerdo con la Norma Técnica Peruana (NTP) 202.087 (INDECOPI,1992), el queso fresco es el producto sin madurar obtenido por separación del suero después de la coagulación de la leche cruda o reconstituida, pasteurizada, entera o parcialmente descremada, o de una mezcla de estos productos, y que cumple con los requisitos especificados en esa norma (generales: color, forma, corteza, pasta, composición; fisicoquímicos; aditivos alimentarios permitidos; microbiológicos; y temperatura de conservación).

El contenido de nutrientes de los productos lácteos favorece el crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos y de deterioro. La mayoría de los microorganismos detectados se debe a un incorrecto almacenamiento, manipulación, o prácticas de distribución. Para el mantenimiento de la normativa, el control, es necesaria la prevención de microorganismos indeseables después de la fabricación, durante distribución y almacenamiento (Laslo y György, 2018).

El consumo de queso fresco sin pasteurizar puede representar un riesgo para la salud pública. Debido a esto, las autoridades de salud deben hacer cumplir la legislación que prohíbe el procesamiento de queso con leche no pasteurizada y alentar a los productores a seguir buenas prácticas de manufactura desde los ingredientes originales, pasando por el proceso de producción del queso, hasta su venta para asegurar un producto, Soria, et al. (2021).

En la Universidad Sapientia, Universidad Húngara de Transilvania, Laslo y György (2018), evaluaron la calidad microbiológica de 22 productos lácteos diferentes, disponibles comercialmente. Entre las muestras estudiadas, cuatro fueron queso blando tipo salado, dos fueron queso fresco, uno fue queso blando (mascarpone), uno fue tipo feta (Telemea), cinco fueron variedades de queso procesado, uno fue mozzarella, uno fue un queso semiduro, uno fue queso ahumado, cinco fueron requesón, y uno fue un producto lácteo para untar. Las muestras fueron evaluadas para identificar la presencia de *Pseudomonas* sp., coliformes totales, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens*, levaduras y hongos microscópicos. Se encontró que el nivel de contaminación de los productos lácteos evaluados varió ampliamente. Entre las muestras de

productos lácteos, los más contaminados fueron el queso blando salado, el queso procesado y el requesón. Se concluyó que la calidad microbiológica de las muestras estudiadas fue satisfactoria, pero existieron muestras potencialmente peligrosas.

La susceptibilidad del queso fresco a bacterias contaminantes se debe en parte a su alto contenido de sal, pH y humedad. Se analizaron quesos de nueve marcas diferentes de EE. UU. Respecto al pH, el contenido de sal y humedad además de pruebas microbianas que incluyeron levaduras, mohos, coliformes, enumeración de bacterias del ácido láctico y *Listeria monocytogenes*. Se encontró poca variación entre el pH de los quesos muestreados (rango=6,62–6,86), contenido de sal (1,53–2,01%) y humedad contenido (43,90-54,50%). Las levaduras y mohos estaban por debajo el límite de detección de enumeración en todos los quesos y los coliformes estaban por debajo del límite de detección en los primeros 3 lotes, pero se detectaron en niveles variables en el cuarto lote (>3,0 número más probable/g). *Listeria monocytogenes* no se aisló después enriquecimiento en ninguna de las muestras. (Holle, et al.,2018).

Consumir quesos frescos representa riesgos en la transmisión de agentes patógenos. La evaluación de muestras de quesos artesanales, pertenecientes a pequeños productores privados asociados a una cooperativa de La Habana, Cuba, permitió conocer que el 91,6% de las muestras presentaron valores por encima de  $10^6$  UFC/g para el indicador de recuento de microorganismos a 30°C. Los coliformes totales fueron superiores a  $10^4$  UFC/g en el 83,2% de las muestras analizadas, mientras que los hongos filamentosos y levaduras se encontraron en el 100% de las muestras en concentración mayor a  $10^4$  UFC/g. Los resultados evidenciaron deficiencias sanitarias en los quesos analizados. (Martínez, et al. 2016).

Martínez, et al. (2020), identificaron los peligros bacterianos en la producción de queso fresco artesanal en Cuba, se estudiaron fincas productoras. Los peligros bacterianos identificados en la leche y el queso respectivamente fueron: *Listeria* spp. (9,5 y 18,9%), *Bacillus cereus* (23,2 y 24,2%), *Escherichia coli* O157 (12,6 y 13,7%), *Salmonella* spp. (10,5 y 17,9%) y *Staphylococcus aureus* (29,5 y 51,6%). No se detectó *Listeria monocytogenes*. Nueve serotipos de *Salmonella* correspondientes a *Salmonella enterica* subsp. *enterica* y *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* fueron aisladas, mientras que *Salmonella anatum* estuvo presente con mayor frecuencia. La formación de biopelículas por las especies aisladas y la producción de enterotoxinas por las cepas de *S. aureus* demostraron el potencial patógeno de los peligros bacterianos identificados. Los resultados demostraron la presencia de peligros bacterianos en la leche cruda y los quesos analizados, por lo que se deben cumplir buenas prácticas de manufactura a lo largo de todo el proceso productivo para evitar la ocurrencia de enfermedades transmitidas por alimentos en la población.

En el sector cooperativo y campesino de Cuba se ha incrementado la producción de quesos frescos artesanales a partir de la implementación de un nuevo sistema de pago, debido a ello se determinó la



calidad higiénico-sanitaria de los quesos de productores de la provincia Mayabeque. Se realizó un estudio a 50 productores de dos cooperativas con tradición en la producción de queso. De cada productor se tomaron muestras de leche cruda y de queso. Se analizaron los indicadores: microorganismos a 30°C, conteo de coliformes totales, enterobacterias totales, *Escherichia coli*, hongos filamentosos, levaduras viables y *Staphylococcus aureus*. El recuento de microorganismos a 30°C, coliformes totales, enterobacterias totales y *Escherichia coli* fue superior a 6,0; 4,7; 4,8 y 4,3 (log UFC/ml o g), respectivamente, tanto en las muestras de leche como en los quesos. Los resultados de los recuentos de hongos filamentosos y levaduras viables se encontraron con valores superiores a 3,2 y 5,8 (log UFC/ml o g) en las muestras; mientras que *Staphylococcus aureus* mostró valores superiores a 4,0 log UFC/ml (leche) o g (queso). Los resultados evidenciaron que la contaminación microbiana fue mayor en los quesos que en las muestras de leche para cada uno de los indicadores que se analizaron. La evaluación realizada evidencia la necesidad de implementar buenas prácticas lecheras y buenas prácticas de manufactura en el proceso de producción para garantizar la calidad higiénico sanitaria de los quesos. (Flores, et al.,2020).

Jiménez, et al. (2021), evaluaron la calidad microbiológica de quesos frescos artesanales. Se estudiaron 15 muestras de diferentes productores en las provincias Villa Clara y Artemisa, Cuba. Para el estudio se emplearon los métodos tradicionales y dos kits de detección rápida. Se demostró que los conteos microbianos para las muestras analizadas estaban por encima de  $1,5 \times 10^3$  UFC/g en los conteos de hongos filamentosos y levaduras, coliformes termotolerantes y *Escherichia coli*, lo que evidenció la deficiente calidad sanitaria de los productos. En cuanto a la presencia de patógenos, *Staphylococcus coagulasa* positiva presentó valores superiores a  $1,5 \times 10^4$  UFC/g, representando un peligro al considerar su dosis infectiva. Para *Salmonella spp.* y *Listeria spp.* los análisis resultaron negativos tanto por los métodos tradicionales como por el método rápido Reveal 2.0, pues los positivos encontrados fueron falsos ya que se comprobó por el sistema API 20E que las presuntas cepas aisladas correspondían a *Citrobacter freundii*, poniendo de manifiesto reacciones de antígenos cruzados entre Enterobacterias.

Baque y Chugchilan (2019), evaluaron la calidad microbiológica de quesos frescos comercializados en un mercado de la provincia del Guayas, Ecuador y producidos en una quesera artesanal de la provincia de Chimborazo. Evaluaron 72 muestras de quesos frescos de 700 g, los puntos de muestreo fueron: la planta de producción, el camión de transporte a su arribo al Mercado Popular ubicado en el cantón Milagro-Guayas y en local de comercialización. Se midieron los parámetros físico químicos (pH, acidez, aw, temperatura) y los recuentos microbiológicos de indicadores de calidad (Coliformes, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Enterobacterias) utilizando placas Petrifilm. Se determinó los potenciales puntos de contaminación en las diferentes etapas y el tiempo transcurrido entre las mismas, a través de la observación directa del proceso desde la recepción de la materia prima hasta la comercialización del producto final. Los resultados del recuento de *Staphylococcus aureus* ( $5.07 \pm 0.06$

Log<sub>10</sub> UFC/g) en planta fueron mayores a lo encontrado en la misma etapa para Enterobacterias (4.33 ±0.06 Log<sub>10</sub> UFC/g), seguido de coliformes (4.27±0.03 Log<sub>10</sub> UFC/g) y finalmente *E. coli* (4.03 ±0.03 Log<sub>10</sub> UFC/g), los cuales presentaron incrementos en las etapas consecutivas, corroborándose con los resultados de acidez y pH debido a las condiciones de temperatura de almacenamiento a la que son sometidos los quesos a lo largo de la cadena productiva así como la manipulación deficiente. En conclusión, los productos evaluados en la investigación no cumplieron con los requisitos de calidad microbiológica estipulados en la NTE INEN 1528.

El queso fresco artesanal elaborado a partir de leche y en condiciones de producción no controladas representa un foco importante para la salud pública en países en desarrollo. Benítez, et al (2019), evaluaron los efectos microbiológicos en quesos artesanales que se comercializaban en el municipio de Puebla, México, se procesaron un total de 89 muestras de 10 mercados. Se realizó el recuento microbiano de bacterias mesófilas y bacterias coliformes totales. Los resultados mostraron para todos los mercados el recuento de bacterias aerobias mesófilas 5,55 log UFC/g y para coliformes totales 3,80 log UFC/g.

Soria, et al. (2021), investigaron en el estado de Michoacan, México, la calidad microbiológica de 60 muestras de queso, 30 frescos y 30 Adobera, las cuales fueron colectadas de seis fábricas artesanales. Las condiciones higiénicas de estos establecimientos y las prácticas de elaboración del queso eran generalmente pobres. Las 60 muestras de queso analizadas tuvieron resultados insatisfactorios. En cuanto a los quesos frescos, las 30 muestras analizadas fueron positivas para bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales, coliformes fecales, levaduras y mohos. *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* estuvieron presentes en 23 y 21 muestras, respectivamente. *Listeria monocytogenes* fue identificada en una muestra y fue aislado de un tanque de leche a granel en la misma fábrica artesanal. En cuanto a los quesos Adobera, todas las muestras resultaron positivas para aerobios. bacterias mesófilas, coliformes totales, coliformes fecales, levaduras, mohos, y *S. aureus*. Se aisló *E. coli* de 28 muestras. Se aisló Salmonella a partir de una muestra y de una pala de madera utilizada en la elaboración de los quesos en la misma fábrica artesanal.

El consumo de quesos frescos artesanales es muy común y la mayoría de ellos están elaborados con leche de vaca sin pasteurizar. Guzmán et al. (2016), evaluaron un total de 52 quesos frescos sin pasteurizar de cinco tipos diferentes de una variedad de proveedores de Tabasco, México. Utilizando el método del número más probable, el 67 % y el 63 % de las muestras fueron positivas para coliformes fecales y *E. coli*, respectivamente; revelando su baja calidad microbiológica. Las condiciones higiénicas generales y las prácticas de los fabricantes tradicionales de queso fueron deficientes; la mayoría de los establecimientos tenían pisos de cemento sucios, todos carecían de mosquiteros en ventanas y puertas, y ninguno de los manipuladores de alimentos usaba delantales, máscaras quirúrgicas o gorros acolchados. Después de analizar todos los aislamientos de *E. coli* (121 cepas) en

busca de la presencia de 26 genes de virulencia, los resultados mostraron que 9 (17 %) de las muestras estaban contaminadas con cepas de *E. coli* diarreógenas, 8 albergaban *E. coli* no productora de toxina Shiga O157 (STEC), y una muestra contenía STEC y cepas de *E. coli* difusamente adherentes. Todas las cepas de STEC portaban el gen *stx1*. Dos muestras estaban contaminadas con *Salmonella*. Los resultados demostraron que los quesos frescos sin pasteurizar producidos en Tabasco son de mala calidad microbiológica y con frecuencia pueden albergar patógenos transmitidos por los alimentos.

Ocampo et al. (2019), estudiaron diferentes tipos de quesos artesanales (campesino, costeño, cuajada, doble crema, mozzarella y pastuso), comercializados en plazas de mercado (Alameda, El Cortijo, La Floresta y Santa Elena) de la ciudad de Cali, Colombia, fueron analizados usando las plataformas VIDAS y VITEK 2 para detectar e identificar la bacteria *L. monocytogenes*. En una muestra de 126 quesos frescos artesanales tomados en estas plazas, 27% resultaron positivos para la bacteria. Entre estas muestras, el queso cuajada con 44.1% presentó el mayor número de casos positivos para *L. monocytogenes*. Entre las plazas, Alameda con un 62% de muestras positivas presentó el mayor número de quesos positivos. Este estudio, representa la primera evaluación de la presencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos artesanales que se comercializan en plazas de mercado de Cali. De esta manera, se pretende generar una alerta acerca de la necesidad urgente de implementar mecanismos de vigilancia y control en la fabricación y comercialización de alimentos, teniendo en cuenta que actualmente la legislación colombiana no establece la obligatoriedad de la vigilancia de *L. monocytogenes* en quesos frescos.

Jaramillo et al. (2021), realizaron la vigilancia de quesos para detectar la presencia de *Listeria monocytogenes*. Se recolectó tres tipos de queso fresco artesanal no ácido (Campesino, Costeño y Cuajada) de 12 municipios del departamento del Quindío, Colombia. *L. monocytogenes* se detectó en 104 (53,6%) de las 194 artesanales muestras de queso fresco analizadas. Los mayores porcentajes de contaminación se detectaron en Salento (90,9%), Calracá (65,5%), Armenia (64,9%) y Filandia (50%). No se encontró una asociación significativa entre municipios y se identificó contaminación con *L. monocytogenes*. Sin embargo, ninguna asociación podría establecerse entre el tipo de queso y la aparición de la bacteria. los hallazgos revelaron porcentajes muy altos de muestras contaminadas. La presencia de *L. monocytogenes* en quesos artesanales sigue siendo una amenaza.

Según Marques et al. (2023), uno de los atractivos del creciente mercado ecológico es la garantía de ofrecer alimentos más sanos y con menor impacto sobre el medio ambiente, utilizando un método de producción más sostenible. El mercado lácteo es uno de los más populares del sector, pero los estudios sobre la seguridad de los productos lácteos siguen siendo escasa.

Marques, et al. (2023), en el estado de Río de Janeiro, Brasil, evaluaron la calidad microbiológica de muestras de queso Minas Frescal orgánicos y convencionales y la sensibilidad antimicrobiana de cepas aisladas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus coagulasa* positivas a diferentes antimicrobianos. No se

detectó *Listeria spp.* y *Salmonella spp.* en ninguna de las muestras analizadas. En cuanto a los *Staphylococcus coagulasa* positivos, el 70% presentó recuentos superiores a lo establecido por la legislación brasileña, pero sin diferencias significativas entre los sistemas. En la determinación del Número Más Probable de *E. coli* se observó diferencia significativa entre los sistemas, con un mayor índice de contaminación en los quesos derivados del sistema orgánico. Todas las cepas aisladas mostraron 100% de resistencia a los  $\beta$ -lactámicos y tanto en el sistema convencional como en el orgánico se observaron múltiples características de resistencia.

Según Vásquez, et al., (2017), el queso fresco industrial proveniente de las principales empresas de la ciudad de Cajamarca, Perú, es ampliamente consumido por los pobladores de la ciudad; sin embargo, la población desconoce la calidad bacteriológica del mismo, representando un riesgo para su salud. Así mismo, no se cuenta con un banco de datos de toxiinfecciones alimentarias que se hayan presentado en la Región de Cajamarca.

Vásquez, et. al (2018) determinaron la carga microbiana del queso fresco industrial en la ciudad de Cajamarca, Perú, así como también evaluaron la calidad bacteriológica del mismo, mediante lo establecido por la Norma Sanitaria que constituye los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano. Se evaluaron un total de 30 muestras de 0.5 kg cada una proveniente de 6 empresas productoras de queso fresco industrial (A, B, C, D, E y F). Se realizaron los análisis microbiológicos pertinentes para la determinación de mesófilos viables, coliformes, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Staphylococcus aureus*. Se usó el diseño completamente al azar con 5 repeticiones. Al concluir el proceso de análisis se reportó los siguientes valores promedio de carga microbiana: mesófilos viables  $1.06 \times 10^{5.5}$  UFC/g, coliformes totales  $6.32 \times 10^{3.3}$  NMP/g, coliformes fecales  $4.75 \times 10^{3.3}$  NMP/g, muestras positivas para *Escherichia coli* 33.3%, *Staphylococcus aureus*  $4.02 \times 10^{3.3}$  UFC/g y ausencia de *Salmonella spp.* Estos resultados fueron comparados con la Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano" (R.M. N° 591-2008-MINSA). Concluyendo que los quesos de la empresa F presentan mejores condiciones microbianas.

El queso cajamarquino es ampliamente consumido en todas las ciudades del Perú, sin embargo, este producto podría estar contaminado con *E. coli* pero se desconoce la fuente de contaminación y si estos contaminantes bacterianos son patógenos o simples indicadores de mala calidad. Tacaya (2022), se enfocó en determinar los grupos filogenéticos predominantes y la diversidad genética de *E. coli* aislada de quesos producidos en el departamento de Cajamarca. Para ello, se reactivaron 49 aislados de *E. coli* obtenidos en un trabajo previo; se extrajo ADN genómico de cada aislado y se hizo una PCR cuádruplex para establecer los grupos filogenéticos y una REP-PCR para determinar la diversidad genética de los mismos. Los productos de PCR se visualizaron en gel de agarosa y los perfiles de

bandas se analizaron en el programa PAST v. 4.03. Se encontró que 33 (67,4 %) de aislados de *E. coli* pertenecerían al grupo filogenético A, 15 (30,6 %) al grupo filogenético C, y solo 1 (2 %) al grupo filogenético B1. Este estudio permitió conocer la diversidad genética y la distribución de grupos filogenéticos, evidenciándose que la mayoría correspondería a aislados comensales con bajo potencial patogénico que provendría fundamentalmente de animales.

Gonzales y Abanto (2020), evaluaron la inocuidad de los derivados lácteos comercializados en la Región Amazonas, Perú, realizaron el análisis fisicoquímico y microbiológico de 29 muestras, procedentes de las provincias de Chachapoyas, Bongará, Luya, Rodríguez de Mendoza y Utcubamba distribuidas en 18 muestras de queso fresco, 7 de queso madurado y 4 de yogurt. Se evaluaron los parámetros físicos de potencial de hidrógeno, acidez y humedad. En cuanto los parámetros químicos, se determinó proteína, grasa y energía. En referencia a los análisis microbiológicos, se determinó coliformes totales, coliformes fecales, bacterias aerobias mesófilas viables, *Staphylococcus aureus* y enterobacterias. También se determinó la concentración de histamina. Todos los resultados fueron contrastados con la normativa correspondiente, para los niveles de vendedor y comercializador. El análisis estadístico aplicado fue un t-student, observando probabilidades inferiores a un nivel de significancia de 0,05 y en algunos casos inferiores a un nivel de significancia 0,01. Los valores de los parámetros microbiológicos evaluados, excedieron los límites máximos permisibles según la normativa vigente.

El departamento de Amazonas tiene varias cuencas ganaderas, cuyos derivados lácteos como el queso se expenden en los mercados de la ciudad de Chachapoyas. Por ello es necesario evaluar la calidad microbiológica de los quesos frescos artesanales que se comercializan con la finalidad garantizar la inocuidad de los mismos, evitando un riesgo potencial en la salud de los consumidores.

## II. MATERIAL Y MÉTODO

### Muestra Biológica:

Las muestras biológicas fueron quesos frescos artesanales, que se expendían en los mercados de la ciudad de Chachapoyas, región Amazonas. Se recolectaron en total 60 muestras de quesos, durante tres muestreos.

### Identificación de los puntos de muestreo de quesos:

Se eligieron cinco puntos de muestreo por mercado teniendo como característica de elección el lugar de mayor preferencia de los consumidores.

Las muestras fueron adquiridas de los siguientes mercados:

- Mercado Modelo (MM).
- Mercado de abasto Yance (MY)
- Mercado Mayorista 1 (MM1)
- Mercado Mayorista 2 (MM2)

Las muestras fueron procesadas en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.



*Preparación de Muestras de Alimentos*

### **Preparación de Medios de Cultivo**

Para el aislamiento e identificación de microorganismos se prepararon los siguientes medios de cultivo: Agar PCA, Agar Mac Conkey, Agar TSI, Agar LIA, Agar Citrato Simons, Agar Nutritivo, Agar Baird Parker, Agar para Listeria, Agar Endo, Caldo Bilis Verde Brillante, Agar XLD, Caldo Peptonado, Caldo Lactosado, Caldo Triptófano. Los medios de cultivo fueron esterilizados a 121°C x 15 min. y servidos en placas o tubos.

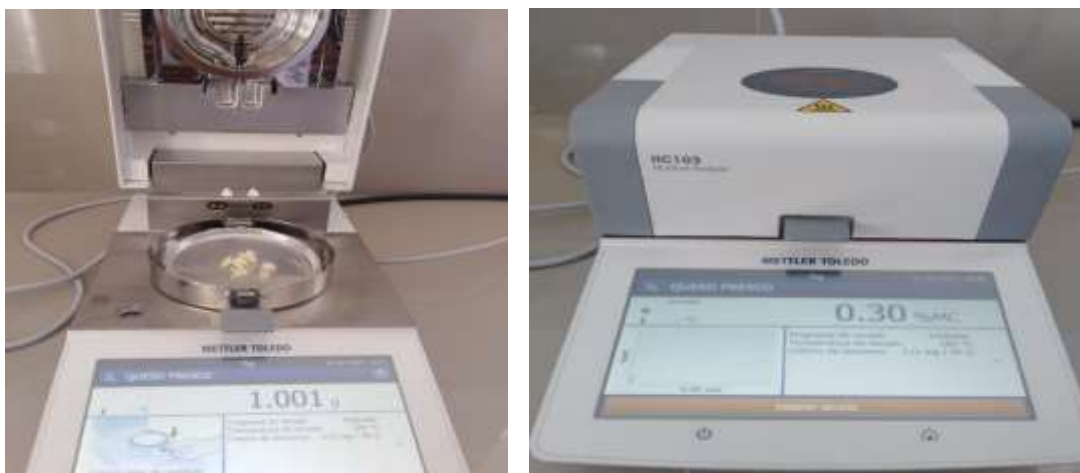


*Preparación de medios de cultivo*

*Medios para esterilizar*

### **Determinación peso, ph y humedad:**

Las muestras de queso fueron pesadas utilizando una balanza digital. Para la determinación de ph se utilizó un ph metro. Se midió la humedad utilizando una balanza de humedad colocando 1g. de muestra de queso.



*Determinación de la humedad de las muestras de queso, utilizando una balanza de humedad*

**Determinación y recuento de coliformes totales:**

Se realizó de acuerdo a la Técnica del Número más probable. Para ello se realizó el homogenizado y preparación de las diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ) del queso fresco. Se pipeteo 1 ml. de cada una de las diluciones del homogenizado del alimento en tubos de caldo lactosa 2% bilis verde brillante (Caldo BRILA), utilizando tres tubos para cada dilución. Se incubó los tubos a 35-37°C durante 24 y 48 horas. Pasadas las 24 primeras horas, se anotó los tubos que mostraron producción de gas. Se buscó el valor en la Tabla del NMP y anotó el NMP que corresponda al número de tubos positivos de cada dilución. (ICMSF, 2000)



*Dilución de las muestras*



*Incubación de muestras por la Técnica del NMP*



*Dilución  $10^{-1}$*



*Dilución  $10^{-2}$*



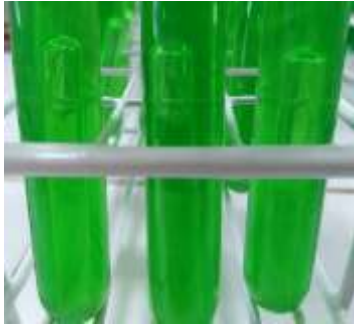
*Dilución  $10^{-3}$*

***Recuento Coliformes Totales: Tubos Gas Positivo***

**Determinación y recuento de coliformes fecales:**

Se seleccionaron los tubos con caldo BRILA que mostraron formación de gas para coliformes totales. Se inoculó una asada de cada tubo gas positivo en caldo BRILA. Se incubó a 44°Cx24-48h. Los tubos de caldo BRILA que mostraron formación de gas en las campanas Durham fueron positivos para coliformes fecales. Se anotó el número de tubos gas positivos y se determinó el recuento con la tabla del Número Mas Probable.





*Dilución 10<sup>-1</sup>*



*Dilución 10<sup>-2</sup>*



*Dilución 10<sup>-3</sup>*

***Recuento Coliformes Fecales: Tubos Gas Positivo***

**Recuento e identificación de *Escherichia coli*:**

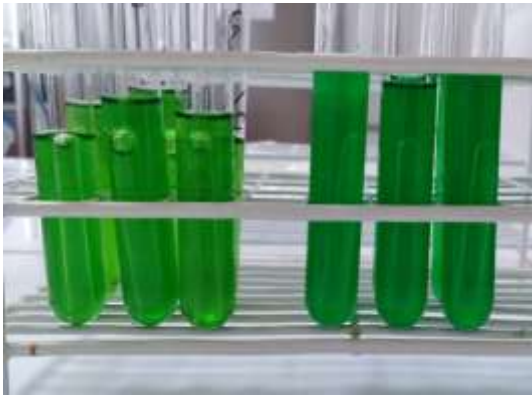
El recuento de *Escherichia coli* se realizó mediante la técnica del número más probable siguiendo el mismo procedimiento que para coliformes totales.

La identificación de *Escherichia Coli*, se realizó sobre la base de las pruebas (IMViC) de indol (+/-) rojo de metilo (+) Voges Proskauer (-) y citrato sódico (-). Se Sembró por estría un asa de cada tubo de caldo positivo de gas (caldo lactosa 2% bilis verde brillante), en placas de agar Endo, utilizando una placa para cada tubo. Se incubó las placas invertidas durante 24 horas a 35-37 °C. Se Seleccionó colonias individuales y se sembró cada una en agar nutritivo inclinado y caldo lactosado. Incubar durante 24 horas a 35-37 °C.

A partir de los cultivos gas positivos en caldo lactosado, se hizo una extensión y se realizó la tinción Gram para confirmar la presencia de bacilos Gram negativos no esporulados. Para inocular en los medios IMViC se utilizó los cultivos de 24 horas del agar nutritivo inclinado. (ICMSF, 2000)



***Siembra de colonias en caldo BRILA***



*Recuento de Escherichia coli: Tubos Gas Positivo*



*Coloración Gram*



*Prueba de Indol*

### **Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables**

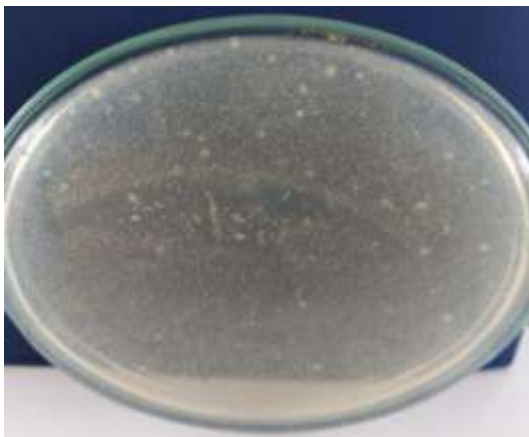
El recuento de bacterias aerobias mesófilas viables se realizó en agar PCA (Plate count agar). Se disolvió 23,5 g. de polvo en 1000mL. de agua destilada. Se calentó con agitación constante y se llevó a ebullición para disolver completamente, luego se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15 min. Se realizó la siembra por incorporación (en profundidad) inoculando 1 mL. de la muestra en dilución  $10^{-6}$ , luego se agregó un volumen de 15mL a 18 mL del medio de cultivo fundido y enfriado a 40°C-45°C. Se homogenizó mediante movimientos de vaivén y de rotación. Se dejó solidificar y posteriormente se incubó a 37°C x 24h. Después del tiempo indicado se realizó el recuento de colonias.



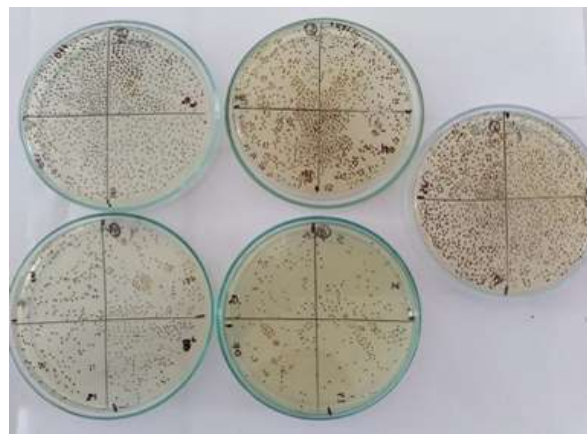
*Equipo Contador de colonias*



*Observación de colonias en el contador*



*Crecimiento de colonias dilución  $10^{-3}$*



*Recuento de colonias en agar PCA*

### **Identificación de *Staphylococcus aureus*:**

Se colocó asépticamente 1 asada de la muestra en agar Baird-Parker con yema de huevo telurito y se distribuyó el inóculo sobre la superficie del agar. Se incubó las placas durante 24-48 h a  $35^{\circ}$ – $37^{\circ}$ C. Las colonias típicas de *Staphylococcus aureus* sobre agar Baird Parker fueron redondas, de bordes lisos, convexas, de 2-3 mm de diámetro, húmedas, brillantes, negras, con un borde blanco fino, rodeadas de una zona opaca y de un halo claro de 2-5mm. Se seleccionaron las colonias y se realizó la prueba de la coagulasa y prueba de la catalasa. Las colonias de *S. aureus* fueron coagulasa y catalasa positivo (AOAC Official Method 975.55).



*Preparación de la muestra*



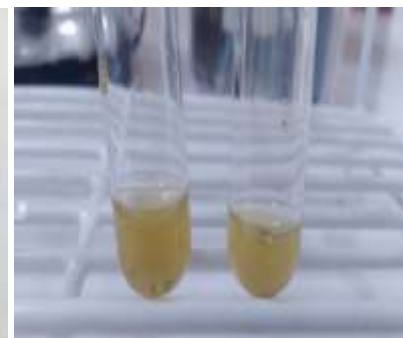
*Incubación de placas sembradas*



*Prueba de la catalasa*



*Colonias redondas, con bordes lisos, húmedas y negras en agar Baird Parker Positiva*



*Prueba de la Coagulasa*



*Observación Microscópica de cocos Gram Positivos, agrupados en racimos. Coloración Gram*

### *Aislamiento de Enterobacterias*

Para el aislamiento de Enterobacterias se utilizó el agar Mac Conkey. Se disolvió 50g del medio en polvo en 1000 mL. de agua destilada. Se calentó con agitación frecuente y se llevó a ebullición 1 a 2 min. hasta disolver, luego se esterilizó en autoclave a 121°C durante 15min. Se enfrió a 42°C y se

servió en placas Petri estériles. Se inoculó directamente la muestra por estría. Las placas fueron incubadas a 37°C durante 24 a 48 horas.

Los microorganismos fermentadores de Lactosa, forman colonias rosadas-rojizas. Puede observarse halo de precipitación biliar. Ejm: *E. coli*, Klebsiella.

Los microorganismos No fermentadores de Lactosa forman colonias de color del medio, incoloras. Ejm: Salmonella, Shiguella, Proteus.

La identificación bioquímica se realizó en agar TSI (Triple Sugar Iron), agar LIA (Agar Lisina Hierro) y agar Citrato Simons.



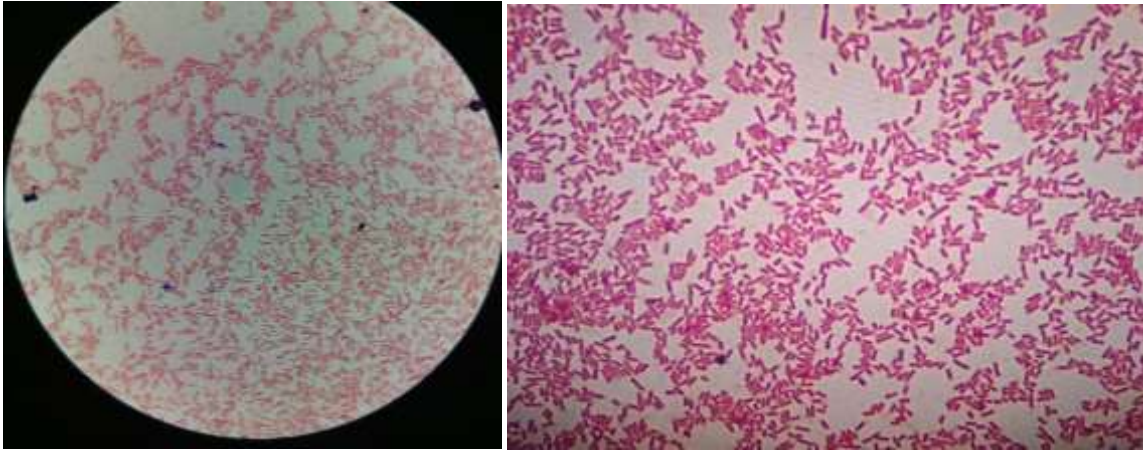
Agar Mac Conkey: Presencia de colonias Lactosa positiva



Tubo 1 (izquierda-TSI), se observa color amarillo por la fermentación de la glucosa, sacarosa y lactosa. Presencia de gas. Tubo 2 (derecha-LIA), se observa color purpura por la reacción alcalina (descarboxilación de la Lisina). Reacción característica de *E.coli*.



Tubo 1 (izquierda-TSI), se observa color amarillo por la fermentación de la glucosa, sacarosa y lactosa. Presencia de gas. Tubo 2 (centro-LIA), se observa color negro por la presencia de ácido sulfhídrico, el color morado en la parte superior y amarillo en la base indica fermentación de la dextrosa. Tubo3 (derecha-Citrato) se observa color azul por la utilización del citrato como fuente de carbono. Reacción característica de *Citrobacter*



*Observación Microscópica de bacilos Gram Negativos. Coloración Gram*

**Aislamiento e identificación de Salmonella y Shiguella:**

Se utilizó el agar XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato) para identificar colonias sospechosas de Salmonella y Shiguella. Se disolvió 57 gramos del medio en 1000 mL de agua destilada. Se mezcló vigorosamente y se calentó con agitación suave hasta que el medio llegó a ebullición. Se enfrió a una temperatura entre 45°C-50°C en baño María y se vertió en placas Petri estériles. Luego se procedió al sembrado de las muestras mediante la técnica de estría. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.

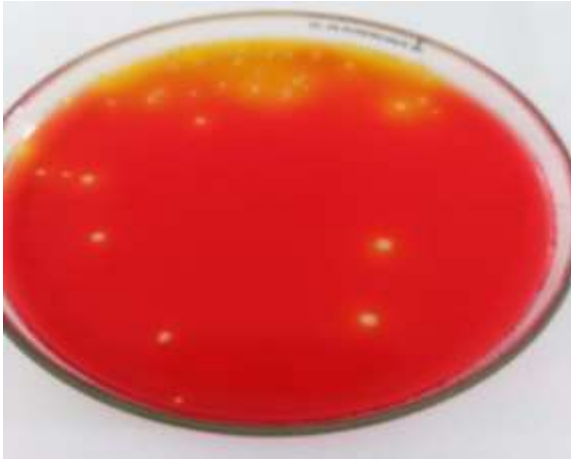
Las colonias sospechosas de Shiguella sobre agar XLD son transparentes y parecen rojas por el color del medio de cultivo. Las colonias típicas de Salmonella son de color rojo con el centro negro debido a la producción de H<sub>2</sub>S. Mientras que las colonias de *E. coli* son grandes y amarillas.



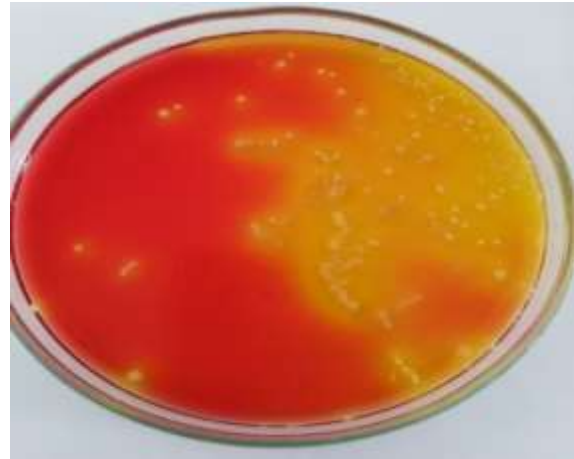
*Muestras de queso*



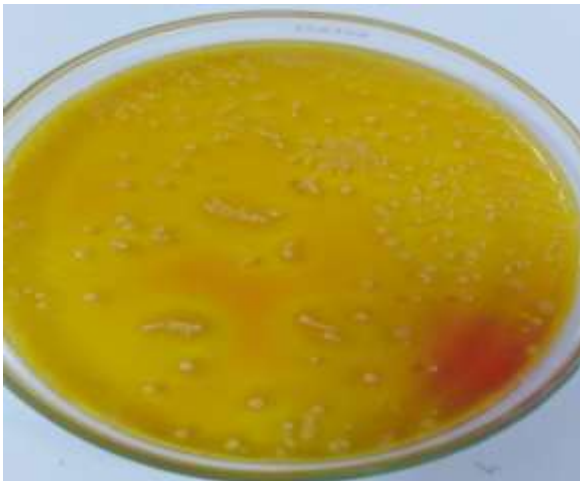
*Agar XLD*



*Ausencia de colonias transparentes, rojas, con centro negro*



*Presencia de colonias grandes y amarillas*



*Presencia de colonias mucosas grandes y amarillas característica de colonias de Escherichia coli*

**Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes*:**

La detección de *Listeria monocytogenes* se realizó mediante la Prueba Visual de Inmunoprecipitado (Visual Immunoprecipitate Assay-VIP)

Preparación de las Porciones de Prueba

- a) Enriquecimiento primario: Se pesaron las muestras de queso, 25 g de queso y se colocaron en 225 ml de mFB + LiCl (caldo Fraser modificado con cloruro de litio). Se mezcló bien utilizando un Vortex. Luego se incubó durante 28 h a 30°C.

- b) Enriquecimiento secundario: Se transfirió 1 ml de mFB+LiCl incubado a 9 mL de BLEB (caldo de enriquecimiento tampón para Listeria). Se mezcló colocando los tubos en un vórtex, luego se incubaron a 30°C durante 24 h.
- c) Inactivación: Se mezcló en un Vortex los tubos BLEB incubados y se transfirió 1,0 ml a un tubo limpio. Se inactivaron los microorganismos a 100°C por 5 min. Se enfriaron los tubos entre 25°C y 37 °C antes de realizar la prueba.

**Procedimiento:**

Se abrió la bolsa sellada que contenía las unidades VIP (Visual Immunoprecipitate Assay) y se retiró el número requerido de pruebas. Se mezcló suavemente el caldo de enriquecimiento inactivado. Se transfirió 0,1 mL de caldo inactivado al pocillo de adición de muestra. Se incubó a temperatura ambiente durante 10 min.

**Lectura de Resultados:**

Se examinó la unidad VIP para detectar la presencia de distintas líneas de detección. Las líneas son oscuras cuando se contrastan con el fondo blanco y deben extenderse a lo largo de la ventana de la unidad VIP. La prueba se considera positiva cuando hay dos líneas presentes en la ventana VIP. La muestra considera negativa cuando hay una línea.



*Unidad de Prueba de Inmunoprecipitado*



*Prueba Negativa para Listeria monocytogenes*



### III. RESULTADOS

**Figura 1**

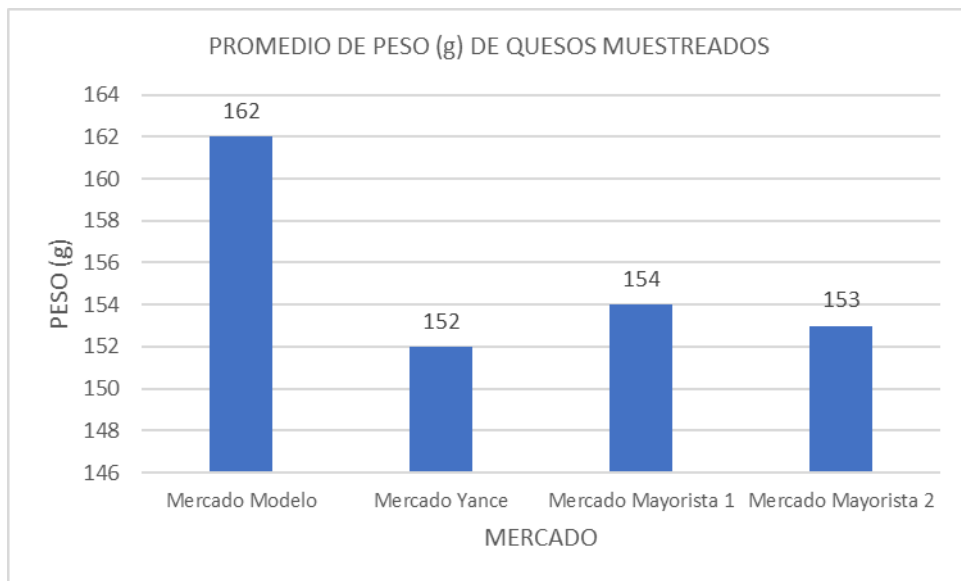
*Porcentaje promedio de procedencia de los quesos muestreados en cuatro mercados de Chachapoyas.*



La figura 1 muestra que el mayor porcentaje de quesos muestreados provienen del distrito de Cheto, provincia de Chachapoyas, región Amazonas.

**Figura 2**

*Promedio del peso (g) de muestras de queso de cuatro mercados de Chachapoyas durante tres muestreos.*



En la figura 2 se observa que el peso promedio de los quesos que se comercializan en los mercados de Chachapoyas es en promedio 162 g.

**Figura 3**

*Valor promedio de ph de muestras de queso que se expenden en cuatro mercados de Chachapoyas.*



En la figura 3 se puede observar que el mayor pH promedio de los quesos muestreados es 5.69 y el menor es 5.28.

**Tabla 1**

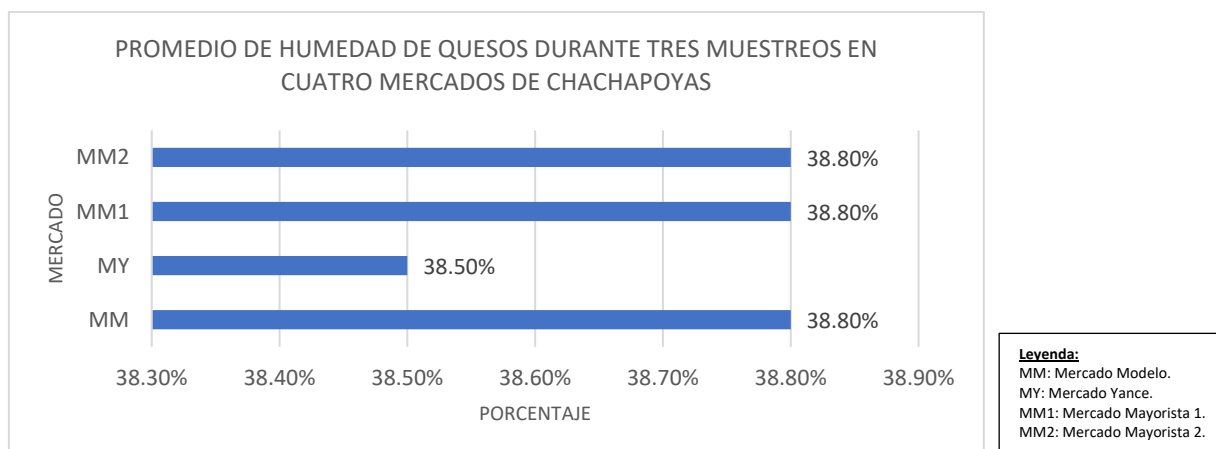
*Rangos promedio de ph de muestras de queso en cuatro mercados de Chachapoyas.*

MERCADO	RANGO DE PH
Mercado Modelo	4.77 - 6.62
Mercado Yance	4.73 - 6.20
Mercado Mayorista 1	4.33 - 6.43
Mercado mayorista 2	4.66 - 6.45
PROMEDIO	4.33 - 6.62

En la tabla 1 se evidencia que el rango promedio de ph de los quesos muestreados es 4.33 a 6.62

**Figura 4**

*Promedio del porcentaje de humedad de los quesos muestreados en cuatro mercados de Chachapoyas.*



La figura 4 muestra que el porcentaje de humedad de los quesos muestreados está en el rango 38.50% a 38.80%

**Tabla 2**

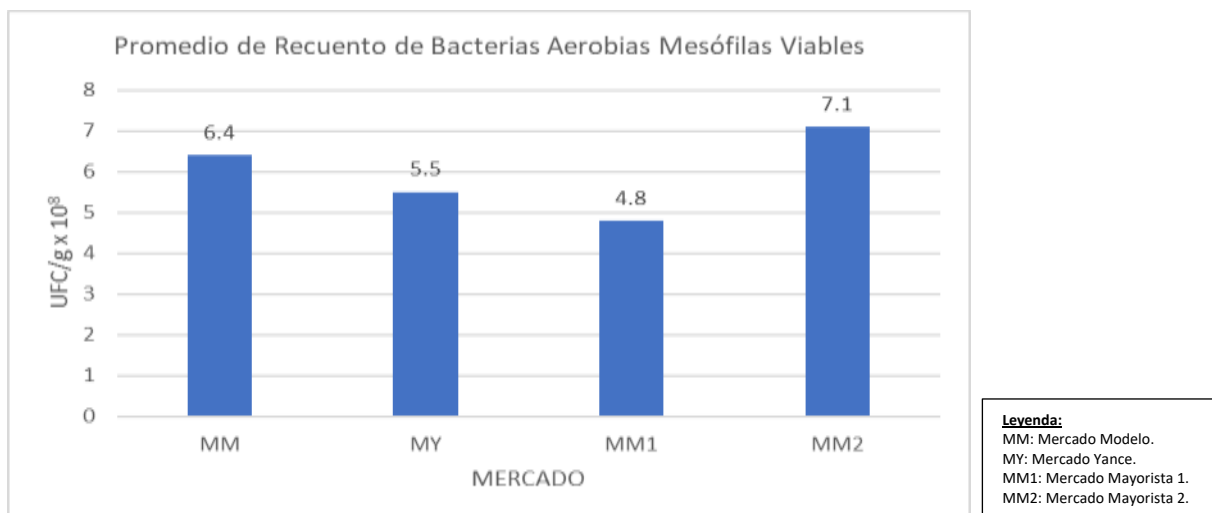
*Promedio de Recuento de Coliformes totales (NMP/g), Coliformes fecales(NMP/g) y Escherichia coli (NMP/g), en muestras de queso que se expenden en los mercados de Chachapoyas.*

MERCADO	PROMEDIO RECuento (NMP/g)		
	Coliformes totales	Coliformes fecales	<i>Escherichia coli</i>
Mercado Modelo	1 100	1 100	305
Mercado Yance	1 100	1 100	244
Mercado Mayorista 1	1 100	1 100	241
Mercado Mayorista 2	1 100	1 100	273
PROMEDIO	1 100	1 100	268

En la tabla 2 se puede evidenciar la presencia de Coliformes totales, fecales y *E. coli* en recuentos promedios de 1 100 NMP/g, 1 100NMP/g y 268NMP/g, respectivamente.

**Figura 5**

*Promedio de Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables (UFC/g) X 10<sup>8</sup> de quesos muestreados en cuatro mercados de Chachapoyas.*



En la figura 5 se observa que el mercado mayorista 2 tiene el mayor número de Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas viables 7.10x10<sup>8</sup> UFC/mL

**Tabla 3**

Identificación de microorganismos en muestras de queso que se expenden en los mercados de Chachapoyas durante tres muestreos (M1,M2,M3).

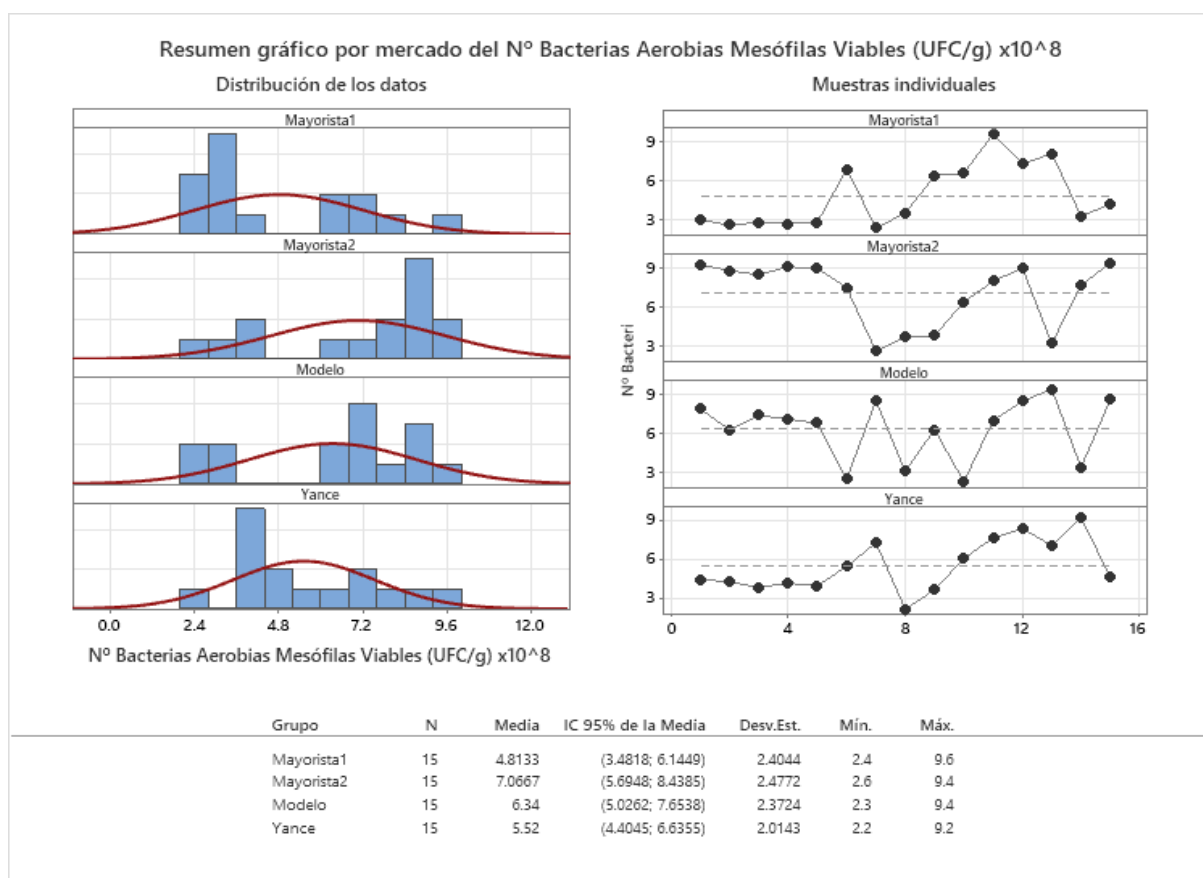
Microorganismo	Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
Enterobacterias	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Enterobacter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrobacter	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Shigella sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Listeria Monocytogenes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

La tabla 3 muestra la existencia de Enterobacterias, *E.coli*, Enterobacter, Citrobacter y *Staphylococcus aureus* en los quesos muestreados.

**Figura 6**

Histograma de Frecuencias del Recuento de Bacterias Aerobias mesófilas viables de los quesos muestreados por mercado.



La figura 6 muestra los valores mínimos y máximos del Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables en los quesos muestreados en los mercados de chachapoyas.

**Tabla 4**

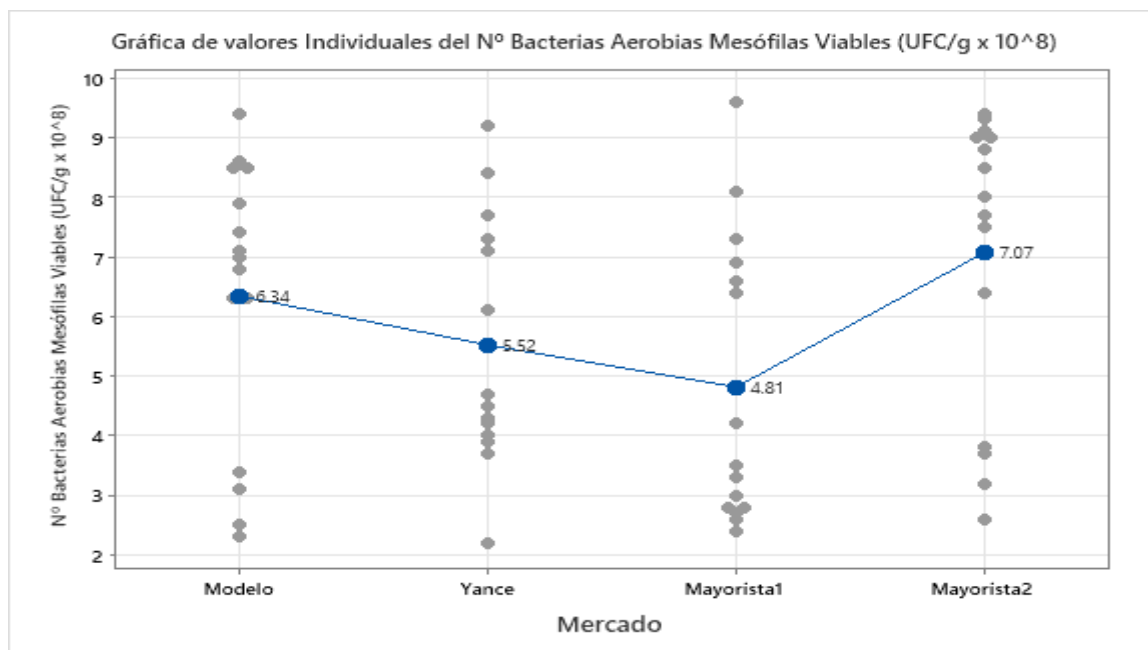
*Análisis de varianza (ANOVA) del recuento de bacterias por tipo de mercado.*

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Mercado	3	43.13	14.375	3.14	0.033
Muestra	2	55.08	27.541	6.01	0.004
Error	54	247.37	4.581		
Falta de ajuste	6	77.52	12.919	3.65	0.005
Error puro	48	169.85	3.539		
Total	59	345.58			

En la tabla 4 se muestra el Anova donde podemos observar que, existe diferencia significativa según el factor mercado, ya que el estadístico muestra  $F=3.14$ ,  $p=0.033 < 0.05$ , lo cual indica que, si existe diferencia significativa en el promedio del Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viabiles por tipo de mercado, es decir que el factor mercado es un factor influyente en el Recuento de Bacterias encontradas en el estudio.

**Figura 7**

*Valores en relación al Promedio del recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas viabiles por mercado.*



La figura 7 muestra la distribución de los datos en función al Promedio. Para el mercado Modelo y Mayorista 2 la mayoría de los datos están concentrados por encima del promedio. Para el Mercado Yance y Mayorista 1, la mayoría de los datos están concentrados por debajo del promedio.

**Tabla 5**

*Comparaciones múltiples de Tukey para diferencia de Medias, en el recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables.*

Diferencia de niveles	Diferencia de las medias		IC de 95%	Valor p ajustado	
	diferencia	EE de		Valor T	
Mayorista2 - Mayorista1	2.253	0.849	(0.009; 4.498)	2.66	0.049
Modelo - Mayorista1	1.527	0.849	(-0.718; 3.771)	1.80	0.285
Yance - Mayorista1	0.707	0.849	(-1.538; 2.951)	0.83	0.839
Modelo - Mayorista2	-0.727	0.849	(-2.971; 1.518)	-0.86	0.827
Yance - Mayorista2	-1.547	0.849	(-3.791; 0.698)	-1.82	0.274
Yance - Modelo	-0.820	0.849	(-3.064; 1.424)	-0.97	0.769

*Nivel de confianza individual = 98.94%*

En la tabla 5 podemos evidenciar que existe diferencia significativa entre Mayorista 2 y mayorista 1 (T=2.66, Dif Medias=2.253,  $p=0.049 < 0.05$ ); sin embargo, con los demás mercados no existe diferencia significativa estadísticamente ( $p > 0.05$ ).

**Tabla 6**

*Cuadro resumen de grupos homogéneos de las comparaciones múltiples de Tukey de Medias, en el recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables (UFC/ml x 10<sup>8</sup>) por mercado.*

Mercado	N	Media	Agrupación	
Mayorista2	15	7.067	A	
Modelo	15	6.340	A	B
Yance	15	5.520	A	B
Mayorista1	15	4.813		B

*Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.*

En la tabla 6 se observa que no existe diferencia significativa entre los mercados mayorista 2, Mercado Modelo y mercado Yance (Grupo A). Además, se muestra que no existe diferencia significativa entre los mercados mayorista 1, Mercado Modelo y mercado Yance (Grupo B). Se concluye que Existe diferencia significativa entre los mercados Mayorista 1 y Mayorista 2 (el mercado mayorista 2 tiene mayor promedio  $7.07 \times 10^8$  UFC/g en relación al mercado mayorista 1 con  $4.81 \times 10^8$  UFC/g).

## DISCUSIÓN

Debido a los nutrientes que contiene la leche y los productos lácteos, se favorece el crecimiento y desarrollo de los microorganismos. Actualmente el consumo de los quesos frescos sin pasteurizar representa un riesgo para la salud de los consumidores. Es importante cumplir con las condiciones sanitarias correspondientes durante toda la cadena productiva de procesamiento y transporte de los quesos hacia los puntos de venta.

La Provincia de Chachapoyas, en la región Amazonas, Perú, tiene 21 distritos donde se elaboran productos lácteos entre ellos queso fresco los mismos que son comercializados en los mercados de la ciudad de Chachapoyas encontrándose en la presente investigación que el 36% son procedentes del distrito de Cheto seguido por el distrito de Molinopampa (23%) y Levanto (23%) (figura 1).

La ciudad de Chachapoyas, cuenta con cuatro mercados (mercado modelo, mercado Yance y dos mercados mayoristas) donde se expenden quesos frescos artesanales, los cuales tienen las mismas características artesanales de elaboración, presentación y comercialización, sin embargo el peso promedio varía entre 152g a 162g (figura 2), esta variación se debe a la falta de estandarización en el proceso de elaboración.

Los productos de elaboración artesanal como los quesos representan uno de los derivados lácteos con mayor aceptación, no obstante, este producto no cuenta con registros que suministren un análisis de la calidad y las condiciones de comercialización. Rodríguez, et al. (2015) al estudiar la Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia, encontraron valores de PH entre 6,5 y 7,7 valores que se diferencian a los encontrados en el presente estudio donde se encontró valores de ph entre 5.28 y 5.69 (figura 3).

El ph de los quesos frescos son factores de susceptibilidad a la contaminación bacteriana. Holle, et al. (2018) al analizar nueve marcas diferentes de quesos en EE.UU. respecto al pH y la humedad, encontraron poca variación del pH en un rango de 6.62 a 6.86 y contenido de humedad entre 43.90% a 54.50%, valores que difieren con los encontrados en la presente investigación donde se encontraron gran variación de pH en un rango promedio de entre 4.33 a 6.62 (tabla 1) y el porcentaje de humedad promedio estuvo en el rango de 38.5% a 38.8% (figura 4).

Baque y Chugchilan (2019), en la provincia de Guayas, Ecuador, al evaluar la contaminación de quesos en las diferentes etapas de elaboración, comercialización y tiempo transcurrido entre las mismas, a través de la observación directa desde el proceso de recepción de la materia prima hasta la comercialización del producto final encontró la presencia de *Staphylococcus aureus*, enterobacterias, coliformes y *Escherichia coli*, debido a la variación de pH y Temperatura de almacenamiento, así como a la manipulación deficiente. Los resultados de Baque y Chugchilan coinciden con los encontrados en la presente investigación habiendo encontrado los mismos microorganismos debido a

la gran variación de pH en rangos de entre 4.33 a 6.62 (tabla 1) y las malas condiciones de manipulación, almacenamiento y comercialización.

El control del pH es muy importante en la elaboración de los productos alimentarios, tanto como indicador de las condiciones higiénicas como para el control de los procesos de transformación. El pH, como la temperatura y la humedad, son importantes para la conservación de los alimentos (Rodríguez, et al., 2015).

Respecto a los Coliformes Totales, en un estudio de muestras de quesos artesanales pertenecientes a pequeños productores de una cooperativa de la Habana, Cuba, se encontró recuentos de coliformes totales superiores a  $10^4$  UFC/g en el 83,3% (Martínez, et al., 2016), valores diferentes a los encontrados en la presente investigación donde se encontraron recuentos de Coliformes Totales superiores a 1 100NMP/g en el 100% (tabla 2) de las muestras analizadas.

Flores, et al. (2020) al analizar la producción de quesos en 50 productores en Mayabeque, Cuba encontró valores de Coliformes Totales superiores a  $4.7 \times 10^1$  UFC/g, valor que es mucho menor al encontrado en la presente investigación y la investigación realizada por Martínez, et al. (2016), sin embargo es similar a la investigación realizada por Benítez, et al. (2019) en Puebla, México quienes estudiaron los efectos microbiológicos en quesos y reportaron valores de Coliformes Totales de  $3,8 \times 10^1$  UFC/g.

Jiménez, et al. (2021) al evaluar la calidad de quesos frescos artesanales en las provincias de Villa Clara y Artemisa en Cuba, encontraron conteos Coliformes Fecales por encima de  $1,5 \times 10^3$  UFC/g, valores similares en nuestro estudio donde se encontró valores superiores a 1,100NMP/g en el 100% (tabla 2) de las muestras analizadas.

Flores, et al. (2020) al analizar los indicadores microbianos en quesos artesanales en Mayabeque, Cuba, encontraron recuentos de *Escherichia coli* superior a  $4,3 \times 10^1$  UFC/g y Jiménez et al. (2021) en un estudio similar reportó recuentos de *Escherichia coli* por encima de  $1,5 \times 10^3$  UFC/g, valores diferentes a los encontrados en esta investigación donde se encontró un recuento promedio de *Escherichia coli* de 268 NMP/g (tabla 2)

Guzmán et al. (2016) evaluaron 52 muestras de quesos frescos en Tabasco, México, utilizando el método del Número Más Probable, encontrando que el 67% y 63% de las muestras fueron positivas para Coliformes Fecales y *Escherichia coli*, valores inferiores a los encontrados en la presente investigación pues de 60 muestras de quesos artesanales muestreados el 100% presentaron resultados positivos para Coliformes Fecales y *Escherichia coli* (tabla 2)

En relación al recuento de bacterias mesófilas viables, se encontró en un rango promedio de  $6,4 \times 10^8$  UFC/g a  $7,1 \times 10^8$  UFC/g (figura 5), valores similares a los encontrados por Martínez, et al. (2016), al estudiar muestras de quesos artesanales en la Habana, Cuba que permitió conocer que el 91.6% de las



muestras presentaron valores por encima de  $10^6$  UFC/g, sin embargo, los valores obtenidos en la presente investigación son mucho mayores a los reportados por Flores et al. (2020), quienes analizaron la calidad higiénica sanitaria de quesos elaborados en Mayabeque, Cuba y obtuvieron valores superiores a  $6 \times 10^1$  UFC/g., semejantes a los reportados por Benítez, et al. (2019) al evaluar los efectos microbiológicos en quesos artesanales que se comercializaban en el municipio de Puebla, México y encontraron recuentos de bacterias mesófilas viables en  $5.5 \times 10^1$  UFC/g.

En la presente investigación se encontró la presencia Bacterias Gram Negativas como enterobacterias identificándose bioquímicamente *Escherichia coli*, Enterobacter y Citrobacter, no se encontraron *Salmonella sp.*, *Shiguella sp.* (tabla 3). En relación a Bacterias Grampositivas se encontró *Staphylococcus aureus* pero no se encontró *Listeria Monocytogenes* (tabla 3). Estos resultados coinciden con la investigación realizada por Laslo y György (2018) quienes evaluaron 21 muestras de quesos y encontraron *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Ocampo et al. (2019) al analizar 126 muestras de diferentes tipos de quesos artesanales que se comercializaban en la Ciudad de Cali, Colombia encontraron que el 27% resultaron positivos para *Listeria monocytogenes* de manera similar Jaramillo et al. (2021) analizaron 194 muestras de queso fresco artesanal en Quindío, Colombia, detectándose el 53.6% (104) de muestras con la presencia de *Listeria monocytogenes*, estos datos son contradictorios con la presente investigación donde no se encontró la presencia de la bacteria en el 100% (60) de las muestras analizadas (tabla 3).

Holle et al. (2018), después de analizar quesos de nueve marcas diferentes en EE.UU, no lograron aislar *Lysteria monocytogenes*, resultado que coincide con la presente investigación, similar resultado encontró Martínez et al. (2020) que al analizar la producción de queso fresco en cuba tampoco logro aislar *Listeria monocytogenes* pero si encontró *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. (tabla 3).

Marquez et al. (2023), en Río de Janeiro, Brasil, al evaluar la calidad microbiológica de quesos artesanales no llegaron a detectar *Listeria sp.*, tampoco encontraron *Salmonella sp.* pero si aislaron *Staphylococcus aureus*, resultados que coinciden con los encontrados en la presente investigación (tabla 3).

Flores et al. (2020) al estudiar la calidad sanitaria de quesos artesanales en Cuba encontró valores superiores a  $4,0 \times 10^1$  UFC/g de *Staphylococcus aureus* a diferencia de Jiménez et al. (2021) que al estudiar la calidad microbiológica de quesos en Cuba encontró la presencia de *Staphylococcus aureus* en valores superiores a  $1,5 \times 10^4$  UFC/g, mientras que para *Salmonella sp.* y *Listeria monocytogenes* los análisis resultaron negativos, pero sí reportaron la presencia de Citrobacter. La identificación de estos microorganismos son similares a los encontrados en la presente investigación (tabla 3).

Baque y Chugchilan (2019) evaluaron la calidad microbiológica de quesos comercializados en un mercado de la provincia de Guayas, Ecuador y encontraron un recuento de *Sthaphylococcus aureus* de

$5.07 \times 10^1$  UFC/g, enterobacterias  $4.33 \times 10^1$  UFC/g, coliformes totales  $4.27 \times 10^1$  UFC/g y *Escherichia coli*  $4.03 \times 10^1$  UFC/g., bacterias que coinciden con las identificadas en esta investigación (tabla 3).

Soria et al. (2021), en Michoacán, México, analizaron 60 muestras de queso, encontraron que respecto a los quesos frescos 30 muestras presentaron bacterias aerobias mesófilas viables. Los coliformes totales y *Escherichia coli* estuvieron presentes en 23 y 21 muestras respectivamente. *Listeria monocytogenes* sólo fue identificada en una muestra. En los quesos Adobera, todas las muestras resultaron positivas para bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales, coliformes fecales y *Estafilococcus aureus*. Se aisló *Escherichia coli* en 28 muestras, mientras que *Salmonella* sp. se aisló en una sola muestra, resultados que coinciden con la presente investigación en relación a la identificación de microorganismos: como bacterias aerobias mesófilas viables, coliformes totales, *Escherichia coli* y *Estafilococcus aureus*, si embargo en nuestro estudio estuvieron presentes en el 100% de las muestras. No encontrándose *Salmonella* ni *Listeria monocytogenes* (figura 5 y tabla 3).

Vásquez, et al (2018) determinaron la carga microbiana de quesos frescos en Cajamarca, Perú reportando para el recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables  $1.06 \times 10^5$  ufc/g, a diferencia nuestro estudio donde se encontraron valores superiores, evidenciándose en un rango promedio de  $6.4 \times 10^8$  a  $7.1 \times 10^8$  ufc/g (figura 5).

Respecto al recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables (UFC/g) $\times 10^8$  de los quesos muestreados por mercado encontramos para el mercado mayorista 1 la media de 4.8133, para el mercado mayorista 2 la media es 7.0667, mercado modelo 6.34 y mercado Yance 5.52 con una desviación estándar de 2.4044, 2.4772, 2.3724 y 2.0143 respectivamente (figura 6). Además en esta investigación se encontró que existe diferencia significativa ( $p=0.033$ ) entre mercados para el recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables (tabla 4). Respecto al promedio del recuento de Bacterias Aerobias, para los mercados Modelo y Mayorista 2 los valores están por encima del promedio a diferencia de los valores de recuento que presentan los mercados Yance y Mayorista 1 cuyos valores están por debajo del promedio (figura 7).

En relación a las comparaciones múltiples de Tukey para diferencia de medias en el recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables se evidencia que existe diferencia significativa entre el mercado Mayorista 2 y mercado Mayorista 1 ( $p=0.049$ ) (tabla 5), sin embargo no existe diferencia significativa entre los mercados Mayorista 2, mercado Modelo y mercado Yance (tabla 6).

Gonzales y Abanto (2020) evaluaron la inocuidad de los derivados lácteos comercializados en la región Amazonas, Perú y encontraron que los parámetros microbiológicos evaluados excedieron los límites máximos permisibles según la normativa vigente, resultados similares a los encontrados a la presente investigación pues en el 100% de la muestras estudiadas se encontraron Bacterias Gram Negativas como Coliformes totales, Coliformes fecales, enterobacterias (*Escherichia coli*, *Enterobacter*,

Citrobacter) y dentro de las Bacterias Gram Positivas se aisló *Estafilococcus aureus* en el 100% de las muestras evaluadas.

Los altos recuentos bacterianos encontrados en todas las muestras de queso fresco en los cuatro mercados de la ciudad de Chachapoyas, confirman la ausencia de condiciones higiénicas en la elaboración, transporte y comercialización. Existen deficiencias en diversos factores, como la baja calidad microbiológica de la leche empleada en la elaboración, maquinaria y utensilios en malas condiciones higiénicas, malas prácticas de manufactura, almacenamiento, transporte y comercialización. El consumo de quesos de elaboración artesanal de acuerdo con el estándar microbiológico observado, constituye un riesgo para la salud de los consumidores.

## CONCLUSIONES

- La calidad microbiológica de quesos frescos que se expenden en los mercados de Chachapoyas no es la adecuada para Coliformes, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, porque supera los límites máximos permitidos por la Resolución Ministerial N°591-2008-MINSA y la Norma Técnica sanitaria No 071-MINSA/DIGESA, sin embargo, si cumple con los valores establecidos para, *Listeria monocytógenes* y *Salmonella sp.*
- El 36% de quesos frescos que se expenden en los mercados de la ciudad de Chachapoyas proceden del distrito de Cheto.
- El peso promedio de los quesos que se expenden en los mercados de la ciudad de Chachapoyas está entre 152g a 162g. El rango promedio de pH es 4.33 a 6.62 y el promedio del porcentaje está entre 38.5% a 38.8%
- El promedio del recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables de los quesos muestreados es  $6.4 \times 10^8$  a  $7.1 \times 10^8$  UFC/g.
- En el 100% de las muestras analizadas se encontró Coliformes totales, Coliformes fecales, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Staphylococcus aureus* y en el 100% de las muestras no se encontró *Salmonella sp.*, *Shiguella sp.* ni *Listeria Monocytognes*.
- En relación al recuento bacteriano se encontró que existe diferencia significativa entre los mercados mayorista 1 y mayorista 2 no existiendo diferencia entre ellos con el mercado Modelo y mercado Yance.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baque E., Chugchilan K. (2019). Evaluación de la calidad microbiología de quesos frescos comercializados en un mercado de la provincia del Guayas y producidos en una quesera artesanal de la provincia de Chimborazo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia.
- Benítez A., Delgado R., Amador G., Eustaquio E., Martínez Y. (2019). *International Journal of Food Engineering*, 5(4) 276-281.
- Flores Y., Armenteros M., Riverón Y., Remón D., Martínez A. (2020). Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de los quesos frescos artesanales de la provincia Mayabeque, Cuba. *Revista de Salud Animal*, 42 (2) 1-7.
- Gonzales, J., Abanto, M. (2020). Inocuidad de los derivados lácteos comercializados en la región Amazonas. *Revista de Investigación en Agroproducción Sustentable*, 4(2), 78-84.
- Guzmán R., Contreras A., Hernández, R., Pérez I., López A., Zaidi M., Estrada T. (2016). Los quesos frescos mexicanos sin pasteurizar están contaminados con *Salmonella* spp., *Escherichia coli* no productoras de toxina Shiga y cepas de *E. coli* uropatógenas potenciales: un riesgo para la salud pública. *International Journal of Food Microbiology*, 237 (21 November) 10-16.
- Holle M., Ibarra L., Liu X., Stasiewicz M., Mille M. (2018). Análisis microbiano de queso fresco de EE.UU. comercialmente disponible. *American Dairy Science Association*, J. Dairy Sci. 101:7736–7745 <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14037>
- Jaramillo E., Trujillo Y., Ocampo I. (2021). Vigilancia de quesos frescos artesanales revela altos niveles de contaminación por *Listeria monocytogenes* en el Departamento de Quindío, Colombia. *Pathogens* 10(10), 1341; <https://doi.org/10.3390/pathogens10101341>.
- Jiménez L., Tejedo R., Leyva V., Hernández M. (2021). Evaluación de la calidad Microbiológica en quesos frescos artesanales mediante métodos tradicionales y dos kits rápidos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 31(1):13-18
- Laslo É. , György É. (2018). Evaluación de la calidad Microbiológica de algún producto lácteo. *Acta Univ. Sapientiae, Alimentaria*, 11 (2018) 27-44.
- Marques M., Marqui A., Martins N., Monteiro A., Moura L., Kasnowski M., Maia R.(2023). Calidad bacteriológica y resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. y *Escherichia coli* aisladas de queso fresco orgánico y convencional. *Food Science and Technology*, 43: 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.54922>
- Martínez A., Montes de Oca N., Villoch A. (2016). Determinación de indicadores sanitarios en quesos artesanales. *Revista Salud Animal*, 39 (1) 64-66.
- Martínez A., Montes de Oca N., Armenteros M., Uffo O., Riverón Y., González D., Remón D., Benone S., Adrião M., Farías S. y Villoch\_A. (2020). Identificación de peligros

bacterianos en la producción de queso fresco artesanal en Cuba. *Journal of Dairy Research*, 87 (22) 263-265.

- Nyamakwere N., Esposito G., Dzama K., Raffrenato E. (2021). Una revisión de la elaboración artesanal del queso: una perspectiva africana. *South African Journal of Animal Science*, 51 (3) 296-309. <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v51i3.3>.
- Ocampo I., Gonzales C., Moreno S., Calderón C., Florez L., Olaya M., Rivera S., Lesmes M. (2019). Presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales comercializados en Cali, Colombia. *Acta Agronómica*, 68(2)108-114.
- Rodríguez J., Borrás L., Pulido M., García D. (2015). Calidad microbiológica en quesos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología* 53(1). Disponible en: <https://revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/47/56>
- Soria R., Domínguez K., Rumbo R., Piña A., Álvarez J., Rivera S., Ponce J., Ortiz R., Gonzales J., Yahuaca B., Cerna J. (2021). Presencia de micobacterias no tuberculosas, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* en quesos artesanales no pasteurizados en el estado de Michoacán, México. *Journal of Food Protection*, 84(5) 760–766 <https://doi.org/10.4315/JFP-20-286>.
- Tacaya w. (2022). Grupos filogenéticos y diversidad genética de *Escherichia coli* aislada de quesos elaborados en el departamento de Cajamarca. Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Cajamarca. <http://hdl.handle.net/20.500.14074/5174>
- Vásquez V., Salhuana J., Jiménez L., Abanto L. (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecología Aplicada*, 17 (1):45-51. DOI: 10.21704/rea.v17i1.1172

## ANEXOS

**ANEXO 1:** Evaluación de la procedencia, peso, ph y humedad de quesos que se expenden en los mercados de Chachapoyas.

**Tabla 7**

*Porcentaje promedio del lugar de procedencia de quesos durante tres muestreos en cuatro mercados de Chachapoyas.*

Lugar de procedencia de las muestras de quesos	Porcentaje
Molinopampa	23%
Cheto	36%
Levanto	23%
Cuelcho	5%
Santo Tomás	9%
Leimebamba	4%
Total	100%

**Tabla 8**

*Peso (g) de muestras de queso de cuatro mercados de Chachapoyas durante tres muestreos (M1,M2,M3).*

PESO (g)											
Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
161	170	216	133	165	148	180	161	147	155	112	162
167	198	168	150	140	145	137	147	138	131	154	193
165	172	162	142	148	156	155	152	161	149	145	183
141	165	105	154	159	165	169	160	153	155	164	139
130	189	128	160	144	170	139	169	145	162	153	140

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.



**Tabla 9**

Valores de ph de muestras de queso que se expenden en cuatro mercados de Chachapoyas durante tres muestreos (M1,M2,M3).

VALOR DE PH											
Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
5.70	5.25	5.15	5.05	5.06	5.04	5.65	5.23	5.8	5.41	5.26	5.07
5.12	5.50	6.62	5.13	5.03	5.40	6.30	5.44	5.08	5.46	6.16	5.09
4.77	6.60	6.01	6.04	5.51	4.73	5.20	5.33	5.77	4.74	5.14	4.66
5.27	5.50	6.10	5.54	6.17	5.09	4.33	6.14	5.43	5.03	5.34	5.61
5.58	6.00	6.20	4.79	5.11	6.20	6.43	5.22	5.21	5.23	6.45	4.70

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**Tabla 10**

Promedio del porcentaje de humedad de quesos durante tres muestreos en cuatro mercados de Chachapoyas.

Mercado	Porcentaje
Mercado Modelo	36.8%
	43.3%
	36.2%
Mercado Yance	37.9%
	38.4%
	39.1%
Mercado Mayorista 1	41.5%
	36.1%
	38.8%
Mercado Mayorista 2	38.1%
	39.0%
	39.1%

**ANEXO 2:** Evaluación Microbiológica de los quesos que se expenden en los mercados de Chachapoyas.

**Tabla 11**

*Recuento de Coliformes Totales (NMP/g) en muestras de queso que se expenden en los mercados de Chachapoyas durante tres muestreos (M1,M2,M3).*

Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**Tabla 12**

*Recuento de Coliformes Fecales (NMP/g) en muestras de queso que se expenden en los mercados de Chachapoyas durante tres muestreos (M1,M2,M3).*

Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100
1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100	1100

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**Tabla 13**

*Recuento de Escherichia coli (NMP/g) en muestras de queso que se expenden en los mercados de Chachapoyas durante tres muestreos (M1,M2,M3.)*

Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3
1100	200	40	4	210	15	1100	4	23	1100	11	70
7	500	150	1100	70	210	500	70	500	210	500	500
3	210	90	500	150	200	210	90	11	500	200	40
500	70	500	150	500	3	150	200	150	7	210	23
200	500	500	500	14	40	500	11	90	9	500	210

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**Tabla 14**

*Recuento de Bacterias Mesófilas Viables en tres muestreos (M1, M2, M3) en cuatro mercados de la ciudad de Chachapoyas.*

Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables (UFC/g)											
Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
$7,9 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$7,0 \times 10^8$	$4,5 \times 10^8$	$5,5 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$	$3,0 \times 10^8$	$6,9 \times 10^8$	$9,6 \times 10^8$	$9,3 \times 10^8$	$7,5 \times 10^8$	$8,0 \times 10^8$
$6,3 \times 10^8$	$8,5 \times 10^8$	$8,5 \times 10^8$	$4,3 \times 10^8$	$7,3 \times 10^8$	$8,4 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$	$2,4 \times 10^8$	$7,3 \times 10^8$	$8,8 \times 10^8$	$2,6 \times 10^8$	$9,0 \times 10^8$
$7,4 \times 10^8$	$3,1 \times 10^8$	$9,4 \times 10^8$	$3,9 \times 10^8$	$2,2 \times 10^8$	$7,1 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$3,5 \times 10^8$	$8,1 \times 10^8$	$8,5 \times 10^8$	$3,7 \times 10^8$	$3,2 \times 10^8$
$7,1 \times 10^8$	$6,3 \times 10^8$	$3,4 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$	$3,7 \times 10^8$	$9,2 \times 10^8$	$2,7 \times 10^8$	$6,4 \times 10^8$	$3,3 \times 10^8$	$9,1 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$	$7,7 \times 10^8$
$6,8 \times 10^8$	$2,3 \times 10^8$	$8,6 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$6,1 \times 10^8$	$4,7 \times 10^8$	$2,8 \times 10^8$	$6,6 \times 10^8$	$4,2 \times 10^8$	$9,0 \times 10^8$	$6,4 \times 10^8$	$9,4 \times 10^8$

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**Tabla 15**

*Identificación de Enterobacterias en muestras de queso de cuatro mercados de la Ciudad de Chachapoyas, en tres muestreos (M1, M2, M3).*

Identificación de Enterobacterias											
Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**Tabla 16**

*Identificación de Staphylococcus aureus en muestras de queso de cuatro mercados de la Ciudad de Chachapoyas, en tres muestreos (M1, M2, M3).*

Identificación de Staphylococcus aureus											
Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**Tabla 17**

*Identificación de Salmonella sp. en muestras de queso de cuatro mercados de la Ciudad de Chachapoyas, en tres muestreos (M1, M2, M3).*

Identificación de <i>Salmonella sp.</i>											
Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**Tabla 18**

*Identificación de Shiguella sp. en muestras de queso de cuatro mercados de la Ciudad de Chachapoyas, en tres muestreos (M1, M2, M3).*

Identificación de <i>Shiguella sp.</i>											
Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**Tabla 19**

*Identificación de Listeria Monocytogenes en muestras de queso de cuatro mercados de la Ciudad de Chachapoyas, en tres muestreos (M1, M2, M3).*

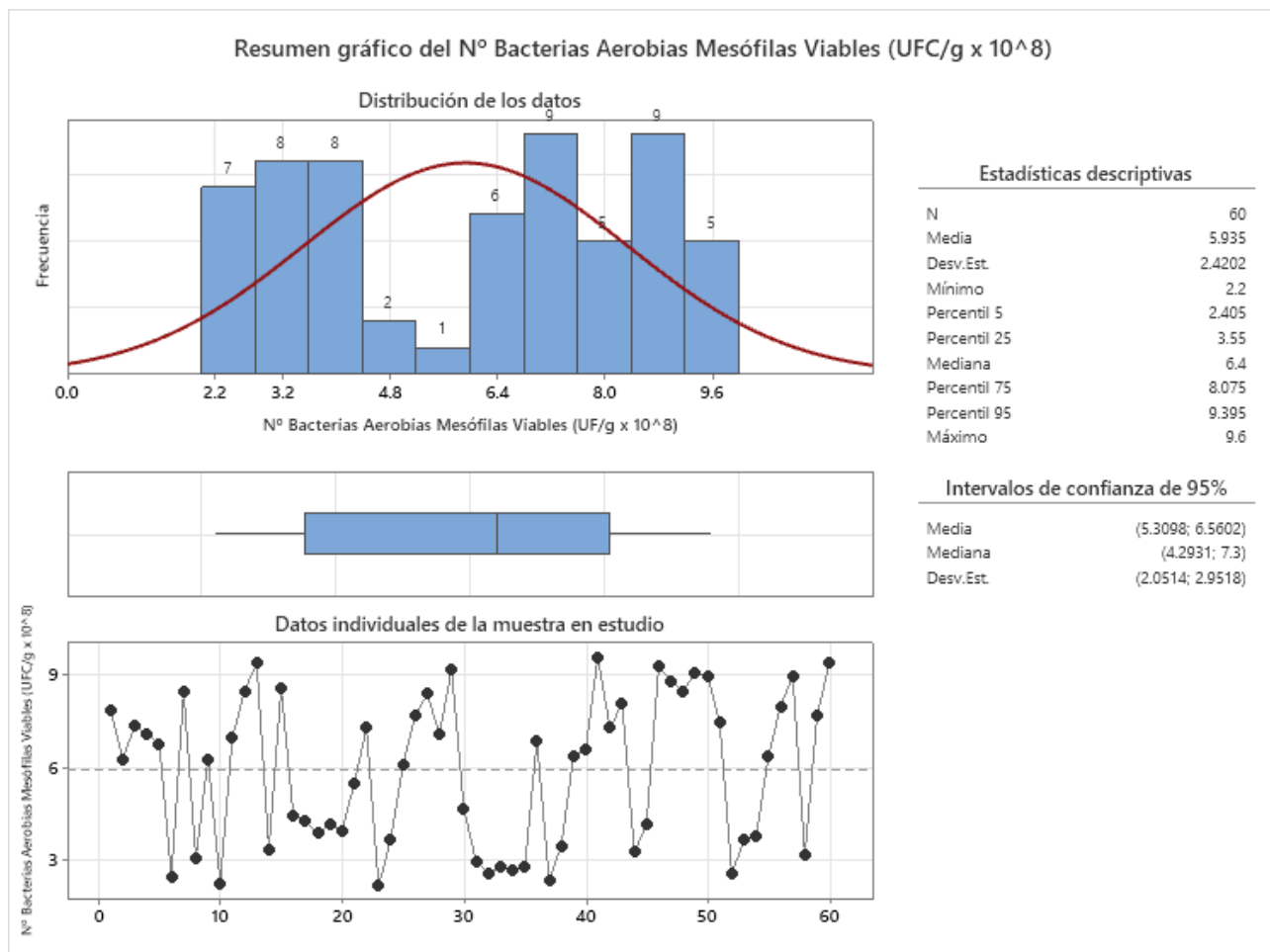
Identificación de <i>Listeria Monocytogenes</i>											
Mercado Modelo			Mercado Yance			Mercado Mayorista 1			Mercado Mayorista 2		
M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3	M 1	M 2	M 3
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Legenda:**  
M1: Primer muestreo.  
M2: Segundo muestreo.  
M3: Tercer muestreo.

**ANEXO 3:** Tratamiento estadístico del Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables.

**Figura 8**

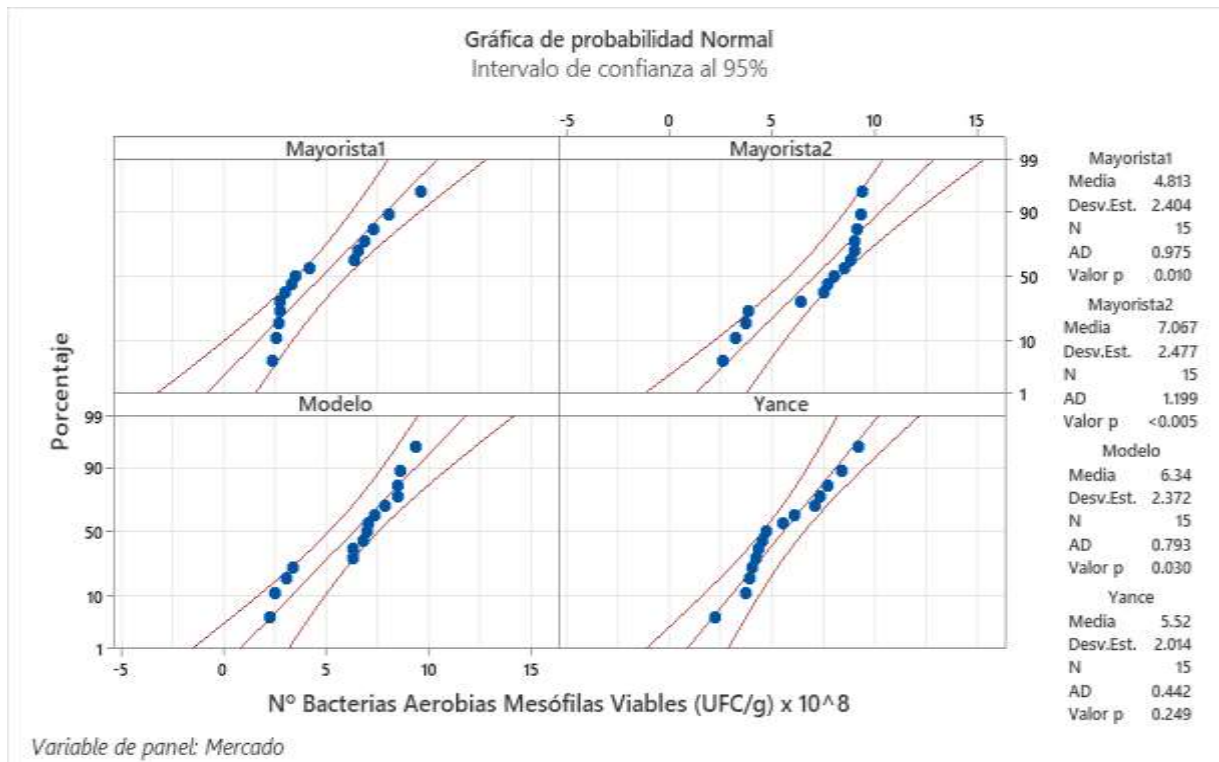
*Histograma de Frecuencias del Recuento de Bacterias Aerobias mesofilas viables (UFC/g x 10<sup>8</sup>) de los quesos muestreados en cuatro mercados.*



En la figura 8, se observa el histograma de la distribución del recuento de bacterias aerobias mesófilas viables de las muestras de estudio. De ello la Media es  $5.935 \times 10^8$  UFC/g y con un Intervalo de Confianza de 95% la Media está en el intervalo  $[5.30-6.56] \times 10^8$  UFC/g, con una Desviación Estándar respecto al promedio en  $2.42 \times 10^8$  UFC/g y un mínimo de  $2.2 \times 10^8$  UFC/g encontradas, con máximo de  $9.6 \times 10^8$  UFC/g, encontradas en los 60 quesos muestreados en los 4 mercados de la ciudad de Chachapoyas.

**Figura 9**

Valores de Probabilidad Normal del Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables por mercado.



En la figura 9, se observa los valores de Probabilidad Normal del Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Viables por mercado. Para que sea una distribución Normal (cercanía del valor en relación al promedio) el valor de “p” debe ser mayor a 0.05

Para comparar si existe diferencia significativa en los 4 tipos de mercados se evaluó la prueba de normalidad aplicando el estadístico de prueba de Anderson Darling (AD). Los resultados muestran que solo para el mercado Yance existe una normalidad en los datos ( $Ad=0.442$ ,  $p=0.249>0.05$ ) con un intervalo de confianza del 95%; así mismo los mercados: Modelo, mayorista 1 y mayorista no tienen una distribución normal en los datos. ( $P<0.05$ ). Sin embargo, ya que uno de los mercados, como es el mercado Yance, tiene una distribución normal se aplicó una prueba paramétrica para comparar las medias de los 4 tipos de mercado.

## ANEXO 4: Fotos de aislamiento, identificación y recuento de microorganismos

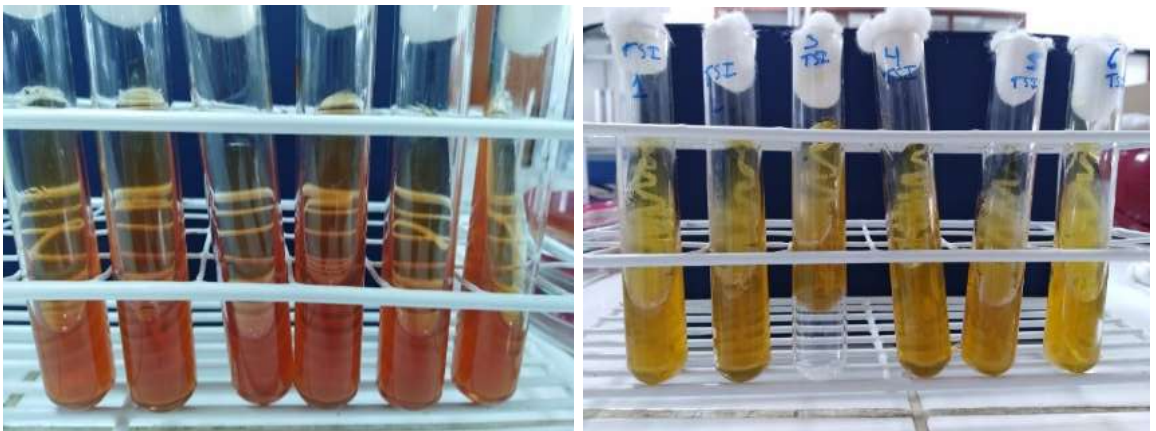
Siembra en placas y tubos de las muestras de quesos



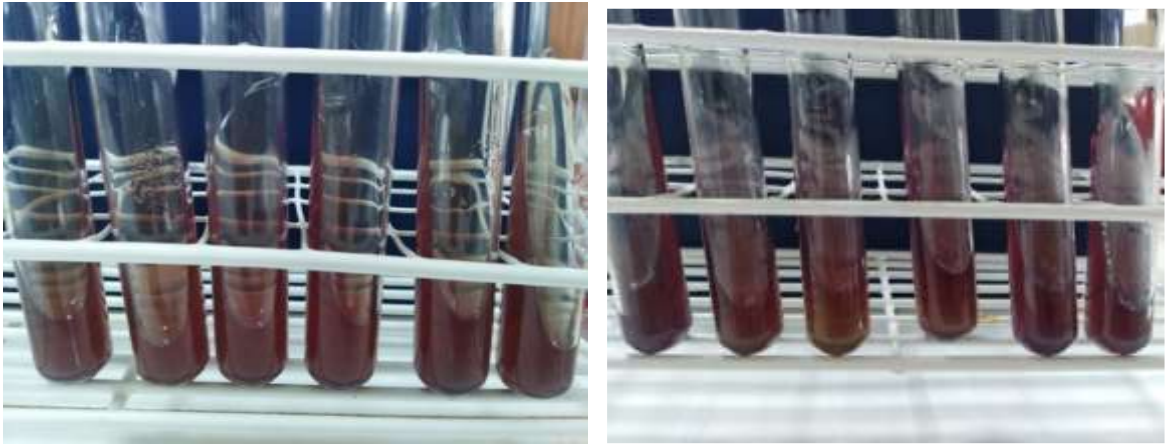
Crecimiento de colonias en Agar Mac Conkey



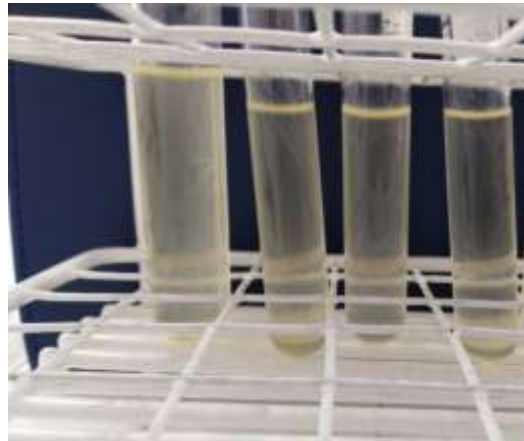
Identificación Bioquímica de Enterobacterias en agar Triple Sugar Iron (TSI)



Identificación Bioquímica de Enterobacterias en agar Lisina Hierro (LIA)



Prueba de Indol (Negativo)



Recuento de bacterias Aerobias Mesófilas Viables

