

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL  
CUSCO**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**



**TESIS**

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE *E. COLI*, *SALMONELLA* Y  
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES  
QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO CENTRAL SAN PEDRO-CUSCO**

**PRESENTADO POR:**

- Bach. FANNY CCAHUANA CONDORI

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL  
DE INGENIERO AGROPECUARIO.**

**ASESOR:**

- Dr. MVZ. EDGAR ALBERTO VALDEZ

GUTIÉRREZ

**CUSCO – PERÚ**

**2024**

# INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, Asesor del trabajo de investigación/tesis titulada: EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE E. COLI, SALMONELLA Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN QUESOS FRESOS ARTESANALES QUE SE EXPENDEN EN EL MERCADO CENTRAL SAN PEDRO CUSCO presentado por: BACH. FANNY KAHUANA CONDORI con DNI Nro.: 46468053 presentado por: ..... con DNI Nro.: ..... para optar el título profesional/grado académico de INGENIERA AGRICOLA

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 2 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 5%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 09 de FEBRERO de 2024

  
UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAAD DEL CUSCO  
P.A.  
Dr. Edgar A. Valdez Gutierrez  
DOCENTE  
Firma

Post firma Dr. EDGAR ALBERTO VALDEZ GUTIERREZ

Nro. de DNI 01285940

ORCID del Asesor 0000-0002-2966-7605

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: OID: 27259327742062

NOMBRE DEL TRABAJO

**EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE E. COLI, SALMONELLA Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN QUESOS FRESCOS ARTESANAL**

AUTOR

**FANNY CCAHUANA**

RECUENTO DE PALABRAS

**18499 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**104577 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**119 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**5.2MB**

FECHA DE ENTREGA

**Feb 9, 2024 10:49 AM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Feb 9, 2024 10:51 AM GMT-5**

### ● 5% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 5% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 4% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

### ● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 20 palabras)
- Material citado
- Bloques de texto excluidos manualmente

## **DEDICATORIA**

### **A Dios:**

La presente investigación va dedicada a Dios, gracias a la fe que le tengo siento que hizo mucho por mí para poder lograr mis metas y llegar hasta aquí.

### **A mi abuelita:**

Leocadia Anaya Huamani porque hizo de mí una gran persona y me inculco siempre la empatía, la humildad, el respeto y el estudio hasta el último día de su vida.

### **A mis padres:**

Flora Condori Anaya y Claudio Augusto Ccahuana Gómez, por su amor y confianza, por apoyarme con sus palabras mágicas de optimismo para alcanzar mis metas, por todo el apoyo incondicional y esfuerzo que pusieron para que yo sea una gran profesional.

### **A mi hijo y esposo:**

Jesús Ghael Fernández Ccahuana, quien fue mi mayor motivación, por sacrificar su niñez y pasar días sin mamá, a pesar de ser tan pequeño sé que lo entendías. A ti mi amor Edwin Fernández Sivana por apoyarme y darme la fortaleza de seguir siempre adelante a pesar de todas las circunstancias. Los amo y son lo mejor de mi vida.

**A mis hermanos:** Ruben, Kevin Cinthia, Ninfa, Wagner Ccahuana Condori, por su apoyo moral y apoyo incondicional, quienes estuvieron siempre conmigo y junto a mí lograron pasar circunstancias difíciles e hicieron posible que llegara a esta meta y ser un ejemplo para ustedes.

**Bach. Fanny Ccahuana Condori.**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco primero a dios por haberme permitido llegar hasta esta meta con salud y vida.

- Agradezco a mi abuelita Leocadia Anaya Huamani, quien me apoyo hasta el último día de su vida para poder lograr mi profesión.
- A mi alma mater que es la Universidad de Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- A mis docentes de escuela profesional de Ingeniería Agropecuaria filial Santo Tomas, Facultad de Ciencias Agrarias, quienes compartieron sus sabios conocimientos durante la carrera universitaria.
- A toda mi familia por su apoyo incondicional, en todo momento a lo largo de mi formación profesional.
- A mis asesores Dr. MVZ. Edgar Alberto Valdez Gutiérrez, Mgt. Santos Wilton Calderón Ruiz, Ing. Zoot. Fiorela Guzmán Figueroa por todo su apoyo y haberme brindado las facilidades para el acceso al laboratorio de Sanidad Animal "M.V. Atilio Pacheco Pacheco", para la ejecución del presente trabajo y hacer realidad este anhelo.

# ÍNDICE

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTO .....	ii
GLOSARIO .....	x
RESUMEN .....	xii
INTRODUCCIÓN.....	xiii
CAPITULO I .....	xv
PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN .....	xv
CAPITULO II .....	1
OBJETIVO Y JUSTIFICACION .....	1
2. 1 Objetivo general.....	1
2.1.1 Objetivos específicos .....	1
2.2 Justificación .....	2
CAPITULO III .....	3
MARCO TEORICO .....	3
3.1. Antecedentes de la investigación.....	3
3.1.1 Internacional .....	3
3.1.2 Nacional.....	3
3.1.3 Regional.....	5
3.2 Bases teóricas .....	5
3.2.1 Queso .....	5
3.2.2 Tipos de queso .....	6
3.2.3 Medidas higiénicas para la elaboración del queso fresco.....	8
3.2.4 Elaboración del queso artesanal .....	11
3.2.5 Composición y rendimiento del queso.....	12
3.2.6 Beneficios microbiológicos asociados al queso fresco .....	13
3.2.7 Microorganismos patógenos y alterantes que pueden colonizar el queso.....	15
3.2.8 <i>Coliformes</i> .....	17
3.2.9 <i>Escherichia coli</i> .....	19
3.2.10 <i>Salmonella</i> .....	20
3.2.11 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
3.2.12 Peligros microbiológicos, químicos y físicos para el consumidor de queso fresco artesanal.....	28
3.2.13 Enfermedades transmitidas por alimentos ETA.....	29

3.2.14 Buenas prácticas de manufactura .....	29
3.2.15 Criterios microbiológicos según el Ministerio de Salud .....	30
CAPITULO IV .....	32
METODO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION .....	32
4.1. Ubicación espacial y temporal de la investigación .....	32
4.1.1 Ámbito de Investigación .....	32
4.1.2 Ubicación política .....	33
4.1.3 Ubicación geográfica.....	33
4.2. Tipo de investigación .....	33
4.3. Equipos y materiales.....	33
4.3.1 Población .....	33
4.3.2. Muestra .....	33
4.3.3. Equipos de laboratorio .....	34
4.3.4. Materiales de laboratorio.....	34
4.3.5 Materiales de escritorio .....	36
4.4. Metodología .....	36
4.4.1 Método de toma de muestras de quesos frescos artesanales.....	36
4.4.2 Método de laboratorio .....	36
4.4.3 Método para conteo de unidades formadoras de colonia (UFC/ml o UFC/g).....	47
4.4.4 Métodos para comparar resultados.....	48
CAPITULO V .....	49
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
5.1. Recuento de <i>Escherichia coli</i> , en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco. ....	49
5.2 Presencia o ausencia de <i>Salmonella</i> en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco. ....	51
5.3 Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco. ....	52
5.4 Discusión .....	55
CAPITULO VI .....	58
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	58
6.1. Conclusiones .....	58
6.2. Recomendaciones .....	58

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b>	Análisis de composición en 100 g de queso fresco. ....	13
<b>Tabla 2.</b>	Clasificación científica.....	17
<b>Tabla 3.</b>	Serotipos de Salmonella sp. adaptados según la especie.....	22
<b>Tabla 4.</b>	Parámetro de vida de Salmonella sp.....	22
<b>Tabla 5.</b>	Criterios microbiológicos para quesos no madurados .....	30
<b>Tabla 6.</b>	Recuento de E. Coli en quesos frescos artesanales del mercado central de San Pedro. ....	49
<b>Tabla 7.</b>	Resultado para presencia o ausencia de Salmonella en quesos frescos artesanales del mercado San Pedro.....	51
<b>Tabla 8.</b>	Resultado para Staphylococcus aureus en quesos frescos artesanales del mercado San Pedro. ....	52
<b>Tabla 9.</b>	Resultado final de calidad microbiológica de las muestras evaluadas. ....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Diagrama de flujo de queso fresco.....	8
<b>Figura 2.</b>	Diagrama de flujo de elaboración de queso artesanal.....	11
<b>Figura 3.</b>	Ubicación del mercado Central de San Pedro en el mapa google Earth.....	32
<b>Figura 4.</b>	Porcentaje de quesos frescos artesanales permisibles y no permisibles de acuerdo al recuento de E. coli. ....	50
<b>Figura 5.</b>	Observación microscópica a 100 X de E. coli aislado en muestras de queso fresco artesanal.....	50
<b>Figura 6.</b>	Porcentaje de quesos frescos artesanales permisibles y no permisibles de acuerdo al recuento de Staphylococcus aureus. ...	53
<b>Figura 7.</b>	Observación microscópica a 100 X de Staphylococcus aureus aislado en muestras de queso fresco artesanal. ....	53
<b>Figura 8.</b>	Compra de quesos frescos artesanales en bolsas de primer uso tipo ziploc del mercado central de San Pedro. Previamente rotulados.....	67
<b>Figura 9.</b>	Esterilización de materiales en autoclave durante 15 min. ....	67
<b>Figura 10.</b>	Preparación de diluyente utilizando 51 g. de 3M™ Agua de peptona Buferada ISO deshidratado.....	68
<b>Figura 11.</b>	Preparación de diluyente utilizando 51 g de 3M™ Agua de peptona Buferada ISO deshidratado a 2000 ml de agua destilada. ....	68
<b>Figura 12.</b>	Esterilización del diluyente 3M™ Agua de peptona Buferada ISO ....	69



<b>Figura 13.</b>	Pesado de 10 g de queso fresco artesanal de cada muestra con la ayuda del tenedor y cuchillo de plástico esterilizado en la cabina de flujo laminar, colocación en una bolsa estéril de primer uso ziploc previamente rotulada y cierre inmediato.....	69
<b>Figura 14.</b>	Muestras de 10 gramos de queso fresco artesanal dentro de su respectiva bolsa ziploc-.....	70
<b>Figura 15.</b>	Quesos frescos artesanales triturados .....	70
<b>Figura 16.</b>	Preparación de dilución utilizando 90 ml de diluyente 3M™ Agua de peptona Buferada ISO en cada bolsa ziploc con 10 g de queso triturado.....	71
<b>Figura 17.</b>	Homogenización de la muestra más el diluyente 3M™ Agua de peptona Buferada ISO. ....	71
<b>Figura 18.</b>	Medimos el pH de la muestra diluida donde el rango se encontró entre 6.5 y 7.5. ....	72
<b>Figura 19.</b>	Preparación de las diluciones para E. coli 10 <sup>-4</sup> y para Staphylococcus aureus 10 <sup>-3</sup> .....	72
<b>Figura 20.</b>	Agitación de las diluciones con la ayuda del agitador vortex .....	73
<b>Figura 21.</b>	Siembra en 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de Staphylococcus aureus. ....	73
<b>Figura 22.</b>	Siembra en Placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/Coliformes	74
<b>Figura 23.</b>	Preparación de la incubadora disponiendo de agua destilada en un vaso precipitado para mantener la humedad. ....	74
<b>Figura 24.</b>	Incubación de las muestras inoculada para E. coli a una temperatura de 35°C por 48 horas y para Staphylococcus aureus a 35°C por 24 horas.....	75
<b>Figura 25.</b>	Recuento de colonias de Staphylococcus aureus en las 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express utilizando el Contador de colonia (Shuett biotec).....	75
<b>Figura 26.</b>	Recuento de colonias de E. coli/Coliformes en las Placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/Coliformes utilizando el contador de colonia (Shuett biotec).....	76
<b>Figura 27.</b>	Las colonias de Staphylococcus aureus se observaron rojo violeta en las 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de Staphylococcus aureus. ....	76
<b>Figura 28.</b>	Las colonias de E. coli/Coliformes se observaron de color azul en las Placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/Coliformes.....	77
<b>Figura 29.</b>	Frotis de las colonias desarrolladas en las placas petrifilm. ....	77
<b>Figura 30.</b>	Observación de frotis en microscopio con el objetivo de inmersión 100 X. ....	78

<b>Figura 31.</b>	Observación microscópica a 100 X de E. coli aislado en muestras de queso fresco artesanal.....	78
<b>Figura 32.</b>	Observación microscópica a 100 X de Staphylococcus aureus aislado en muestras de queso fresco artesanal. ....	79
<b>Figura 33.</b>	Pesaje de 185 g de 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella deshidratado .....	80
<b>Figura 34.</b>	Pesaje de 0.25 g de 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para Salmonella.....	80
<b>Figura 35.</b>	Preparación de diluyente utilizando 185 g de diluyente deshidratado 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella en 5000 ml de agua destilada para las 20 muestras. ....	81
<b>Figura 36.</b>	Homogenización del diluyente 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella utilizando el agitador vortex. ....	81
<b>Figura 37.</b>	Esterilización del diluyente 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella en autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos. ....	82
<b>Figura 38.</b>	Medición del pH de 7.0±0.2.....	82
<b>Figura 39.</b>	Preparación de suplemento utilizando 0.25 g de 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para Salmonella en 5000 ml del caldo 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella para las 20 muestras. .	83
<b>Figura 40.</b>	Homogenización del medio de cultivo para Salmonella.....	83
<b>Figura 41.</b>	Pesado de 25 g de queso fresco de cada muestra y almacenamiento inmediato en una bolsa ziploc de primer uso previamente rotulado. .	84
<b>Figura 42.</b>	Trituración de muestras de 25 g de queso fresco con la mano. ....	84
<b>Figura 43.</b>	Adición de 225 ml del medio a cada bolsa ziploc de queso triturado. ....	85
<b>Figura 44.</b>	Homogenización de cada muestra de queso con el medio de cultivo. ....	85
<b>Figura 45.</b>	Incubación del medio de cultivo más el queso triturado por 24 h a una temperatura de 41.5°C.....	86
<b>Figura 46.</b>	Hidratación de las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) con 2 ml de agua destilada en forma perpendicular.....	86
<b>Figura 47.</b>	Diseminación del agua destilada en las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) utilizando el dispersor 3M. ....	87
<b>Figura 48.</b>	Colocación de las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) en una superficie plana y nivelada durante 1 hora a temperatura ambiente (20 – 25°C) protegida de la luz para que se forme el gel. ....	87

<b>Figura 49.</b>	Siembra de las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) por estriado, desde la parte superior hasta la parte inferior con un asa de 3 mm de diámetro. ....	88
<b>Figura 50.</b>	Incubación de todas las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) sembradas en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba a una temperatura de 41.5°C durante 24 horas. ....	88
<b>Figura 51.</b>	Interpretación de Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) en el contador de colonia (Shuett biotec).....	89
<b>Figura 52.</b>	Observación de placa 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) inoculado en el contador de colonia (Shuett biotec) .....	89
<b>Figura 53.</b>	Placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/Coliformes incubadas.....	90
<b>Figura 54.</b>	Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) incubadas. ..	90
<b>Figura 55.</b>	3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de Staphylococcus aureus incubadas. ....	91
<b>Figura 56.</b>	Placas Petrifilm™ Placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/Coliformes, Staph Express para recuento de Staphylococcus aureus 3M™ y Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX). ....	91

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Método de Toma de muestras de quesos frescos artesanales en el mercado central de San Pedro.....	67
Anexo 2.	Método de esterilización de materiales de laboratorio.....	67
Anexo 3.	Metodología de laboratorio para procesamiento de muestras para E.coli y Staphylococcus aureus.....	68
Anexo 4.	Método para conteo de unidades formadores de colonia (UFC/g) .... .....	75
Anexo 5.	Resultados para Staphylococcus aureus y E.coli .....	76
Anexo 6.	Metodología para determinar la presencia o ausencia de Salmonella en quesos frescos artesanales utilizando placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX).....	80
Anexo 7.	Método para conteo de unidades formadoras de colonia (UFC/g) .... .....	89
Anexo 8.	Placas petrifilm inoculadas.....	90
Anexo 9.	Norma técnica sanitaria NTS N° 071 –MINSA/DIGESA-2008. ....	92
Anexo 10.	Análisis de resultados microbiológicos de E.coli, Salmonella y Staphylococcus aureus emitida por el laboratorio de sanidad animal - K'ayra – UNSAAC .....	93
Anexo 11.	Certificado de calidad de los medios de cultivos microbiológicos de las Placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/Coliformes, 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de Staphylococcus aureus, 3M™ Agua de peptona Buferada ISO 500 g Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX), 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella 500 g, 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para Salmonella frasco X 1 g.....	96

## GLOSARIO

- **ANMAT:** Administración nacional de medicamentos, alimentos y tecnología.
- **AOAC:** Asociación Científica Dedicada a la Excelencia Analítica
- **BCIG:** 5-bromo-4-cloro-3-indolil-beta-D-glucurónido
- **BPM:** Buenas prácticas de manufactura.
- **DIGESA:** Dirección general de salud ambiental e inocuidad Alimentaria.
- **EST:** Extracto seco total
- **ETA:** Enfermedades transmitidas por alimento
- **EUA:** Estados Unidos de América
- **FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación.
- **g:** Gramos
- **ISO:** Organización Internacional de Normalización
- **mL:** mililitro
- **NMP:** Número más probable
- **NTP:** Norma técnica peruana
- **NTS:** Norma técnica sanitaria
- **OIE:** Organización internacional de referencia para la salud animal
- **OMS:** Organización Mundial de la Salud
- **OPS:** Organización Panamericana de la Salud
- **pH:** Potencial de hidrogeno
- **PRODAR:** Programa Cooperativo de Desarrollo de la Agroindustria Rural de América Latina y el Caribe.
- **RAE:** Real Academia Española
- **ST:** Sólidos totales

- **UFC/g**: Unidades formadoras de colonia por gramos
- **VRB**: Bilis rojo-Violeta
- **VRBG**: Bilis rojo-violeta gluconidasa

## RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la carga microbiológica de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco. La toma de muestra se realizó al azar, para lo cual se compró un molde de queso fresco artesanal por cada puesto de venta, haciendo un total de 20 muestras. De cada muestra se utilizó 10 g para la evaluación de *E. coli*, 25 g para *Salmonella* y 10 g para *Staphylococcus aureus*. Según el método reconocido por la AOAC <sup>TM</sup> internacional como método oficial de análisis de las Placas 3M<sup>TM</sup> Petrifilm<sup>TM</sup> las muestras fueron inoculadas en Placas petrifilm<sup>TM</sup> para recuento de *E.coli*, *Staphylococcus aureus* y para determinar presencia de *Salmonella*. Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio institucional de investigación de Sanidad Animal “M.V. Atilio Pacheco Pacheco”, de la Escuela Profesional de Zootecnia - Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Se determinó que el recuento promedio de *Escherichia coli* fue de  $4.8 \times 10^4$  UFC/g de queso, y el 40 % de quesos no cumplen con los límites permisibles. Se determinó que el recuento promedio de *Staphylococcus aureus* fue de  $6.09 \times 10^4$  UFC/g de queso, y que el 70 % de quesos no cumplen con los límites permisibles. No se encontró la presencia de *Salmonella* en las muestras evaluadas. De los 20 quesos frescos artesanales evaluados, el 80 % son NO APTOS para el consumo humano según NTS N° 071–MINS/DIGESA-2008, considerándose de mala calidad sanitaria y representando un alto riesgo para la salud pública.

**Palabras claves:** *E. coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, queso fresco artesanal.

## INTRODUCCIÓN

Los quesos frescos artesanales elaborados por pequeños productores en las diferentes zonas, así como Anta, Ayaviri, Chumbivilcas, Ocongate y otros, se expenden en los diferentes mercados de la ciudad del Cusco, como el mercado central de San Pedro del Cusco, a un costo económico.

El queso contiene grasa, vitamina, sales minerales y principalmente proteínas. Este producto lácteo ayuda especialmente a niños y adultos fortaleciendo el sistema óseo (Juárez et al., 2011). Así mismo las personas que comen queso; yogurt u otros productos lácteos tienen tasas más bajas de anemia que las que no comían nada (Al-kassab et al., 2020). Sin embargo, los quesos frescos se consideran inseguros debido a la presencia de patógenos en la materia prima que es la leche cruda, en la fabricación del queso, en la conservación y durante la comercialización (Merchán et al., 2019).

Cada productor no siempre tiene condiciones sanitarias adecuadas en la elaboración, almacenamiento, transporte y los lugares de expendio, por ende, existe alta posibilidad de contaminación por patógenos como la *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, que puede perjudicar severamente al consumidor, causándole enfermedades gastrointestinales. La *Escherichia coli* es causante principal del síndrome urémico hemolítico, diarrea brusca con dolor abdominal, descarga hemorrágica y fiebre que posteriormente puede llevar a una anemia o a causar insuficiencia renal crónica (Parra, 2020). La causa náuseas, vómitos, calambres abdominales, diarrea, fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, sangre en las heces. Algunas variedades de la bacteria *Salmonella* provocan fiebre tifoidea, una enfermedad que puede ser mortal y que es más frecuente en los países en desarrollo (Mayo Clinic, 2021). El *Staphylococcus aureus* causa náuseas, dolor abdominal,



emesis, diarrea y postración, y en los casos más graves se pueden presentar cefalea y choquen (Zendejas, et al., 2014).

Hoy en día se realizan diferentes campañas de capacitación y entrega de manuales para una adecuada elaboración de los quesos frescos, pese a ello algunos productores no toman en cuenta las técnicas de elaboración. Por lo tanto, el presente estudio de investigación pretende evaluar la carga microbiológica de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco.

## CAPITULO I

### PROBLEMA OBJETO DE INVESTIGACIÓN

A nivel de Cusco en el año 2019 se registró el mayor número de pacientes afectados con 269 enfermos en un solo brote a causa de las ETA frente a otros departamentos del Perú, siendo los principales patógenos *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Clostridium spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Vibrio cholerae*, considerados como agentes clásicos; y *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter sp.*, y *Yersinia sp.* como bacterias emergentes (MINSA, 2019).

En la ciudad del Cusco - mercado central de San Pedro, el queso fresco artesanal es preferido por el consumidor por los hábitos de consumo existentes; sin embargo, este derivado lácteo es elaborado de forma artesanal por pequeños productores, quienes, en el proceso de elaboración, transporte y expendio, no aplican las buenas prácticas de manufactura. Por lo cual ¿Los quesos frescos artesanales que se expenden en el Mercado Central de San Pedro presentaran las bacterias de *E. coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*?

La *E. coli* es una de las principales causas del síndrome urémico hemolítico, diarrea brusca con dolor abdominal, secreción sanguinolenta y fiebre que posteriormente puede provocar anemia o causar insuficiencia renal crónica (Parra, 2020). La *Salmonella* causa náuseas, vómitos, calambres abdominales, diarrea, fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, hemorragia en las heces, incluso algunas variedades de la bacteria *Salmonella* provocan fiebre tifoidea, una enfermedad que puede ser mortal y que es más frecuente en los países en desarrollo (Mayo Clinic, 2021). El *Staphylococcus aureus* causa náuseas, dolor abdominal, emesis, diarrea y postración y en los casos más graves se puede presentar cefalea y choque (Zendejas

et al., 2014). Estos microorganismos se encuentran en la polución que se genera por la actividad humana, representando un peligro para el consumidor. Estos microorganismos son patógenos que afectan a la salud del consumidor, representando un peligro para los mismos. A pesar de que se realizan diferentes campañas de capacitación y entrega de manuales para aplicar las buenas prácticas durante la manipulación de los quesos frescos, algunos productores no toman en cuenta las buenas prácticas de manufactura. Por consiguiente, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* pueden estar presentes en los quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro – Cusco. Por tales razones, los objetivos específicos de la presente investigación fue determinar el recuento de *E. coli*, Determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* y determinar el recuento de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco.

## CAPITULO II

### OBJETIVO Y JUSTIFICACION

#### 2. 1 Objetivo general

Evaluar la carga microbiológica de *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco.

#### 2.1.1 Objetivos específicos

- Determinar el recuento de *Escherichia coli*, en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco.
- Determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco.
- Determinar el recuento de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco.

## 2.2 Justificación

Los quesos frescos artesanales elaborados por pequeños productores en las diferentes zonas (Anta, Ayaviri, Chumbivilcas, Ocongate y otros), se expenden en los diferentes mercados de la ciudad del Cusco, como en el mercado central de San Pedro a un costo económico. Por otra parte, durante el proceso de elaboración, manipulación, transporte y expendio este derivado puede ser contaminado por patógenos, así como las bacterias (*Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*).

Mediante la presente investigación se determinó el recuento de *Escherichia coli*, ausencia de *Salmonella* y se determinó recuento de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco, con la finalidad de conocer la calidad microbiológica de este derivado lácteo. Asimismo, servirá para aportar al conocimiento del consumidor final y permitirá poner en conocimiento de las entidades correspondientes que apoyan a este importante sector económico, sobre la calidad del producto que se expende, con la finalidad de mejorar los procesos mediante capacitaciones, entrega de manuales de buenas prácticas de manufactura, implementación de proyectos que ayuden a mejorar las capacidades de los productores en procesos tan importantes como la elaboración del queso. De tal forma se puede prevenir la contaminación por patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus* y reducir las enfermedades transmitidas por alimentos en humanos. Por las razones antes mencionadas se realizó el presente trabajo de investigación.

## CAPITULO III

### MARCO TEORICO

#### 3.1. Antecedentes de la investigación

##### 3.1.1 Internacional

Según Bullon & Silva (2021) la revisión virtual a nivel mundial sobre la calidad microbiológica y prevalencia de patógenos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en queso fresco artesanal pasteurizado y sin pasteurizar, publicado dentro de 2000-2020. Los microorganismos patógenos más comunes encontrados en los quesos frescos artesanales fueron *L. monocytogenes*, *E. coli* y *Salmonella spp.* Demostraron una mayor prevalencia de microorganismos patógenos en el queso fresco artesanal sin pasteurizar a comparación de aquellos pasteurizados.

Merchán et al. (2019) para identificar los microorganismos comúnmente reportados causantes de las enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas entre los años 2007 a 2016, realizaron una búsqueda virtual, en el cual calculó una prevalencia de patógenos presentes en el queso fresco de aproximadamente 43,71 % de *Staphylococcus aureus*, 18,51 % de *Escherichia coli*. Los microorganismos identificados con frecuencia en las Américas son *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*, indicadores de incorrecta manipulación y de deficiente calidad sanitaria.

##### 3.1.2 Nacional

Ccaso & Huallpa (2020) quienes realizaron el análisis Microbiológico en relación a las condiciones higiénicas sanitarias de expendio de quesos frescos comercializados en los mercados de la ciudad de Juliaca-2020, obtuvieron

recuentos promedios donde las muestras excedieron el límite establecido por las NTP, el 96 % de las muestras presentan *Staphylococcus aureus*, 92 % *Escherichia coli*, 91 %, *coliformes* y determinaron la ausencia de *Listeria monocytogenes* en la mayoría de las muestras.

Carhuas et al. (2020) determinaron las características sensoriales, fisicoquímicas, microbiológicas y condiciones de almacenamiento de las muestras de queso fresco de origen nacional, expandido en mercados del cercado de la ciudad de Ica, determinaron que los microorganismos de *E. coli* y *Salmonella* aprobaron lo especificado por la Norma Técnica Sanitaria del ministerio de salud. En su totalidad de las muestras.

Holguín (2019) tuvo como objetivo determinar la Calidad bacteriológica de queso fresco artesanal comercializado en mercados del distrito de Trujillo - La Libertad, Perú – 2019, encontró que, los valores promedio en 75 muestras, fueron de: *E. coli*  $31.51 \times 10^3$  NMP/100 g, el recuento promedio de *S. aureus* fue  $8.02 \times 10^2$  UFC/g superando los límites permisibles. Demostró que el 100 % de las muestras analizadas superan los límites permisibles de la Norma Técnica Sanitaria N°071 y por lo tanto no son aptas para el consumo humano presentando un alto riesgo para el consumidor.

Vásquez et al. (2018) quien realizó la evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca de acuerdo a la Norma Sanitaria, reportó los siguientes valores promedio de carga microbiana: muestras positivas para *Escherichia coli* 33.3 %, *Staphylococcus aureus*  $4.02 \times 10^3$  UFC/g y ausencia de *Salmonella*.

### **3.1.3 Regional**

Vargas (2019) quien evaluó las condiciones higiénicas sanitarias en la manipulación de alimentos por los expendedores del mercado central de San Pedro, cusco - 2019, consideró a 188 expendedores. Se observa un alto porcentaje de contaminación en el entorno 84.20 %, la conservación 87.50 %, la higiene y limpieza 89.50 % no son adecuados, agua potable 91.4 %, fuentes desordenadas e inoperativas 95.40 %, el aseo personal de los manipuladores no adecuado 96.70 %.

## **3.2 Bases teóricas**

### **3.2.1 Queso**

La palabra queso proviene del latín Caseus. Donde este es un producto adquirido mediante la maduración del cuajo de leche, posee peculiaridades propias de acuerdo a los tipos de queso, origen y de qué manera se está elaborando este queso. Real Academia española (RAE, 2018).

Para (Alais, 1985), el queso es un derivado de la leche que fue adquirida mediante la coagulación y desuerado, es una forma de conservar la caseína y grasa láctea.

Respecto a su origen y difusión, El queso es un alimento muy antiguo para el hombre se originó hace 8 o 9 mil años en el Oriente Medio en la región sumeria conocida como la media luna roja entre los ríos Éufrates y Tigris en el que hoy es Irak, y así se expandió hasta el Occidente (Scott, 1986).

El queso se caracteriza por contener grasa, proteínas y otros componentes lácteos, para obtener el queso se coagula la leche con la ayuda del ácido láctico producido por bacterias o por la incorporación del cuajo del cuarto estomago de un ternero donde este tiene enzimas que coagulan la leche (Kurlat, 2011).



El queso blanco o queso campesino, andino, es fresco y está procesado de la leche de vaca pasteurizada o cruda. Primeramente se filtra, luego calienta, se incorpora los fermentos para el cuajado, se corta y se pone en moldes, se escurre el suero, se prensa y finalmente se hace madurar de 3 a 7 días (Vidal et al., 2020).

### 3.2.2 Tipos de queso

De acuerdo a (Kurlat, 2011), depende de la elaboración de queso hay muchos tipos de quesos y tenemos las siguientes clases:

- quesos frescos no madurados, como el queso blanco.
- queso de pasta blanda, como el cuartirolo, portsalut o cremoso.
- queso de pasta semidura como el queso criollo, mar de la plata o fontina.
- queso de pasta dura como el reggianito o sardo.
- quesos procesados o fundidos

Según (Franklin et al., 2011) lo clasifican en:

**a) Quesos frescos:** Según (Franklin et al., 2011) tiene un sabor suave, no tiene corteza, su consistencia es untable a rebanable y debe ser refrigerado ya que contiene humedad y una vida de anaquel corta. Se dividen en:

- **Frescales:** Panela, Canasto, Sierra, Ranchero, fresco, blanco, enchilado y adobado, entre otros.
- **De pasta cocida:** Oaxaca, Asadero, Mozzarella, Morral y Adobera, entre otros.
- **Acidificados:** Cottage, crema, doble crema, Petit Suisse y Neufchâtel, entre otros.

**b) Quesos maduros:** Según (Franklin et al., 2011) no siempre requiere refrigeración, están hechos con microorganismos de acuerdo a la humedad y temperatura requerida para obtener cambios físicos y bioquímicos del queso

ya que de eso pende su vida de anaquel. Son semiduras o blandas, con o sin corteza, pasta dura pueden tener ojos típicos de fermentación (agujeros) o vetas coloreadas de los mohos empleados para su maduración. Se dividen en:

- **Madurados prensados de pasta dura:** Añejo, Parmesano y Grana Padano, entre otros.

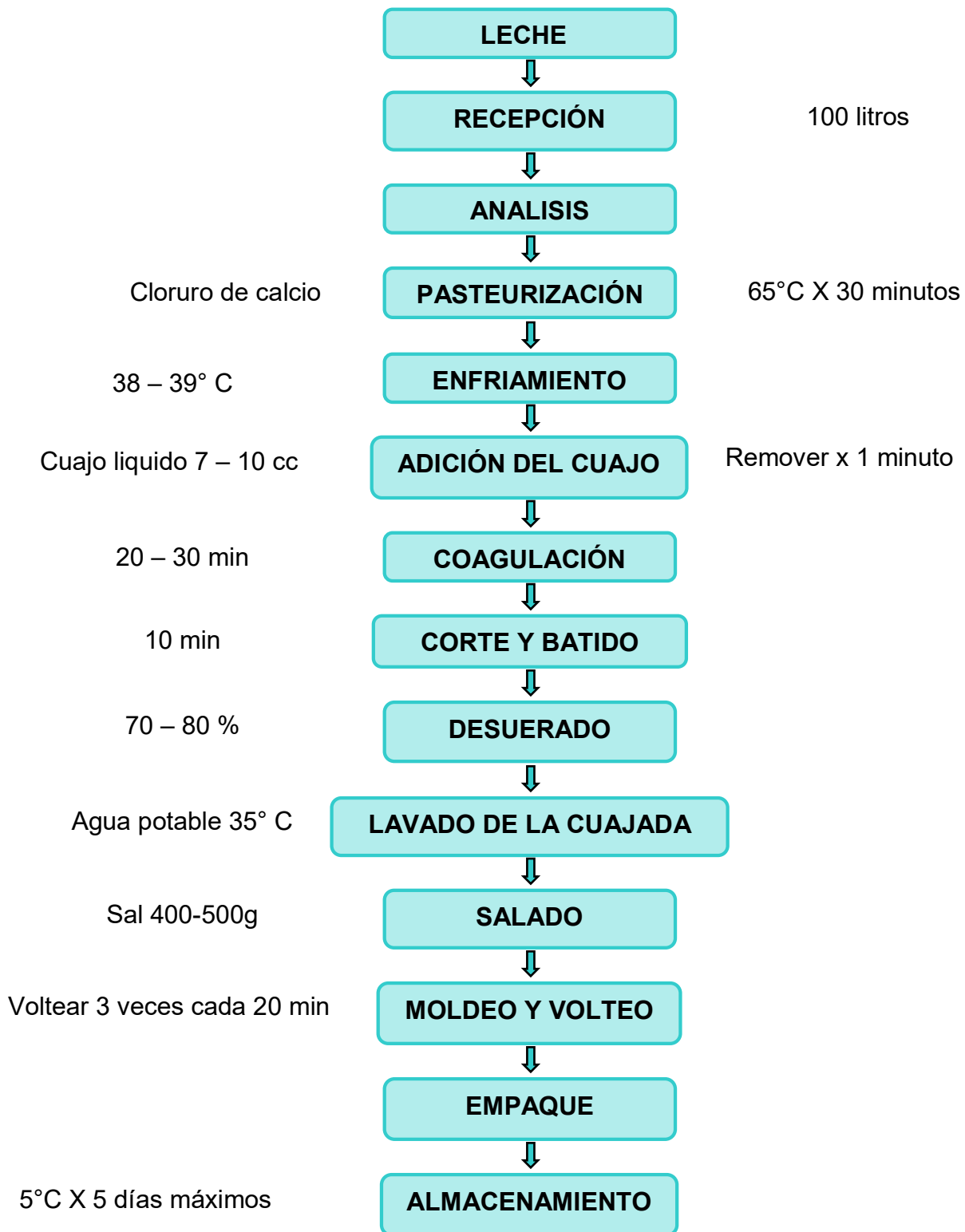
- **Madurados prensados:** Según (Franklin et al., 2011) Cheddar, Chester, Chihuahua, Manchego, Brick, Edam, Gouda, Gruyere, Emmenthal, Cheshire, Amsterdam, butterkase, Coulomiers, Ambo, Erom, Friese, Fynbo, Havarti, harzerkase, Herrgardsost, Huskalsost, Leidse, Maribo, Norvergia, Provolone, Port Salut, Romadur, Saint Paulin, Samsøe, Svecia, Tilsiter, Jack, entre otros.

- **De maduración con mohos:** Según (Franklin et al., 2011) azul, Cabrales, Camembert, Roquefort, Danablu, Limburger, Brie, entre otros.

**c) Procesados:** Según (Franklin et al., 2011) a estos quesos procesados se le agregan aditivos, sales fundente y otros ingredientes, esta intervenido con un proceso térmico para que tenga larga vida de anaquel y pueden ser para untar o fundidos.

### 3.2.3 Medidas higiénicas para la elaboración del queso fresco

Figura 1. Diagrama de flujo de queso fresco



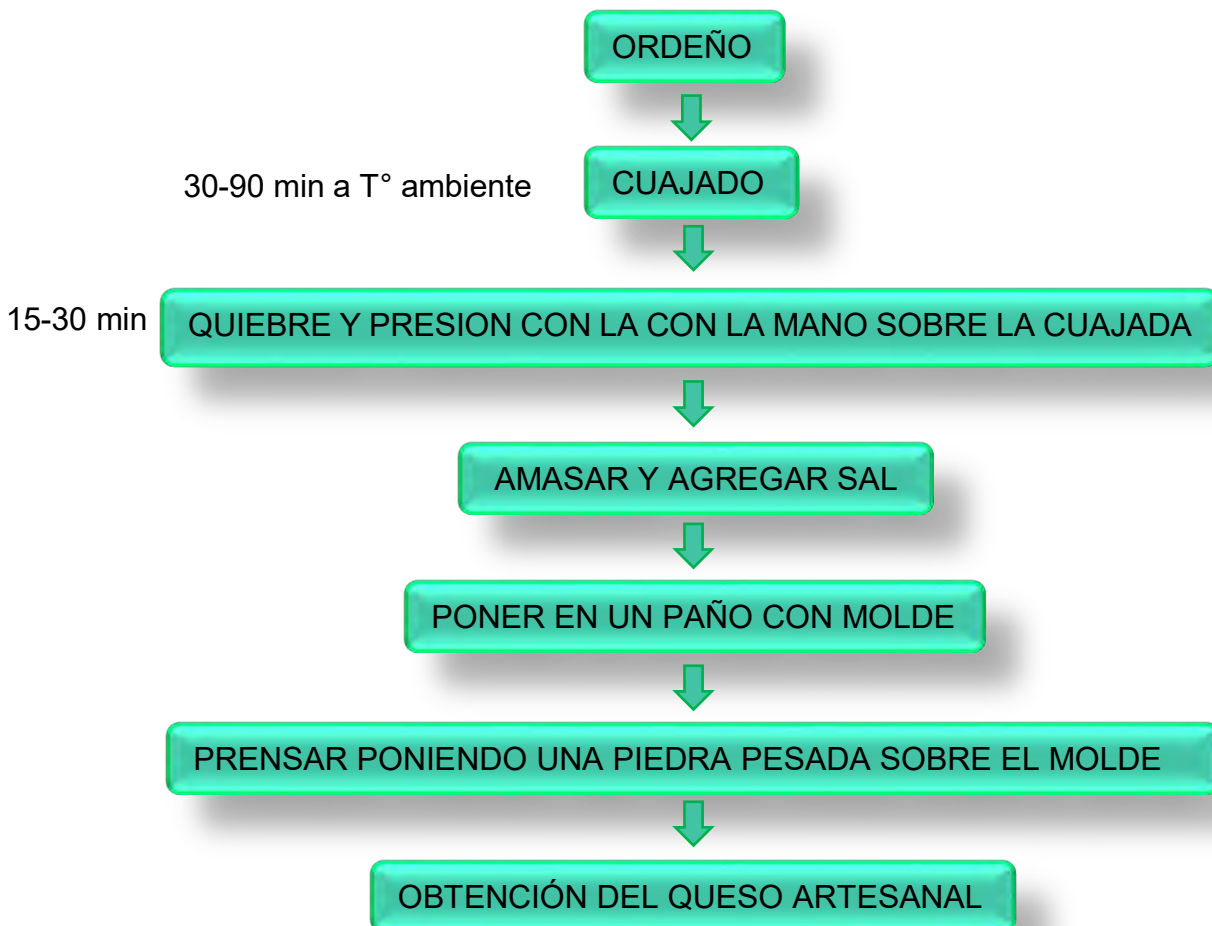
Fuente: PRODAR (2014)

- a) **Recepción:** Se pesa la leche para ver la cantidad, luego se filtra con un paño fino para obtener un queso libre de materia extraña (PRODAR, 2014).
- b) **Análisis:** Se hace análisis de ácido, donde la acidez de la leche debe estar de 16° a 18°(grados Dornic), además se analiza contenido de grasa, antibióticos, análisis sensorial (sabor, olor, color) (PRODAR, 2014).
- c) **Pasteurización:** Se pasteuriza la leche a 65°C durante 30 minutos con el fin de eliminar bacterias patógenas que pueden causar enfermedades, para elaborar un queso de buena calidad. Aquí debe agregarse cloruro de calcio en una proporción del 0.02-0.03 % en relación a la leche que ingresa al proceso (PRODAR, 2014).
- d) **Enfriamiento:** Luego de pasteurizar se debe enfriar de 38-39 °C, con agua fría corriente o utilizando sacos con hielo (PRODAR, 2014).
- e) **Adición del cultivo láctico:** Al pasteurizar la leche es necesario añadir un 0.3 % de cultivo láctico (bacterias seleccionadas y reproducidas) (PRODAR, 2014).
- f) **del cuajo:** Se adiciona cuajo líquido de 7 a 10 cc (centímetro cúbico) para 100 litros de leche, o 2 tabletas para 100 litros (según las instrucciones del fabricante). Se remueve la leche durante 1 minuto para su dilución del cuajo luego dejamos coagular, a una temperatura de 38-39 °C. durante 20 a 30 minutos (PRODAR, 2014).
- g) **Corte:** Para el corte en cubos se utiliza la lira y para pequeñas porciones el cuchillo, se realiza el corte con el fin de realizar el desuerado. Esta operación de cortar y batir tiene una duración de 10 minutos y dejamos por 5 minutos con una acidez de 11 a 12 Dornic (PRODAR, 2014).

- h) Desuerado:** En este punto debemos separar el 70 y el 80% de suero de la masa con la ayuda de un colador (PRODAR, 2014).
- i) Lavado de la cuajada:** consiste en lavar la cuajada con el fin de eliminar residuos de suero y bloquear el desarrollo de microorganismos perjudiciales para el queso. Por cada 100 litros de leche que entra para su elaboración sale 35 litros de suero y se debe suplir con 30 litros de agua tibia de 35°C (PRODAR, 2014).
- j) Salado:** Para 100 litros de leche de vaca se añade de 400 a 500 gramos de sal fina Según el gusto de los consumidores (PRODAR, 2014).
- k) Moldeo:** Se tapa con un paño para rellenar con el cuajo haciendo una presión para que el queso quede compactado luego se pasa a voltear cada 15 minutos luego se deja en reposo 3 horas para concluir se saca del molde y se refrigera (PRODAR, 2014).
- l) Pesado:** Este procedimiento se desarrolla para ver el rendimiento, por cada litro de leche, cuantos quesos se obtiene (PRODAR, 2014).
- m) Empaque:** Habitualmente se usa un empaque de plástico un material que no admita el paso de la humedad (PRODAR, 2014).
- n) Almacenado:** Los quesos deben estar en refrigeración durante 5 a 7 días, ya que de esta manera se mantienen fresco y al mismo tiempo se evita la proliferación de microorganismos (PRODAR, 2014).

### 3.2.4 Elaboración del queso artesanal

Figura 2. Diagrama de flujo de elaboración de queso artesanal



Fuente: Revilla (1982).

La mayoría de estos quesos están elaboradas en fincas y se consumen frescas en algunos casos son prensados para almacenar al menos dos meses y el proceso de elaboración en fincas es la siguiente:

- a) Después del ordeño se deja reposar 2 a 3 horas para que se acidifique y luego se pone leche entera en la quesera (Revilla, 1982).
- b) Se cuaja la leche durante 30 a 90 minutos a temperatura ambiente (Revilla, 1982).

- c) Con la mano se quiebra la cuajada y se hace presión suave sobre la cuajada durante 15 ó 30 minutos (Revilla, 1982).
- d) Sacar la cuajada del molde y amasar la cuajada para agregar sal (Revilla, 1982).
- e) Amasar bien antes de poner en un paño con molde (Revilla, 1982).
- f) Se prensa los quesos poniendo una piedra pesada sobre el molde de 2 a 3 días (Revilla, 1982).
- g) Este queso obtenido es de color blanco y duro y no se desmorona tiene un sabor salado porque contiene el 5 % o más de sal y cada queso varía según el lugar de producción (Revilla, 1982).

### 3.2.5 Composición y rendimiento del queso

**Composición:** Varía de un tipo a otro según el contenido de agua y grasa especialmente. Especialmente varía, porque contiene extracto seco total (EST) o sólidos totales (ST), estos pueden ser desde 25 hasta 75 %, y su contenido de materia grasa con base en ST, la cual varía de 40 a 50 % en quesos producidos con leche entera 3.30 a 3.50 % de grasa (Revilla, 1982)

- a) **La parte no grasa del queso:** Está compuesto por materias nitrogenadas en un 85 a 91 %. y lo demás constituye las sales y los productos procedentes de la lactosa. en La materia nitrogenada la caseína es lo más importante, donde es degradada y se hace parcialmente soluble durante la maduración (Revilla, 1982).
- b) **La lactosa:** Durante los primeros 10 días la lactosa es transformada en ácido láctico, después el ácido se ausenta, casi completamente, en los quesos muy maduros (Revilla, 1982).

**c) Las sales minerales:** Las sales minerales se determina como cenizas donde varían de 0.90 a 2.60 % del queso (Revilla, 1982).

Podemos decir que en la composición nutricional del queso resalta su aporte proteico, tiene buena calidad, además contiene calcio, potasio y vitamina D, con variables cantidades de grasa (Gottau, 2018).

**Tabla 1.** *Análisis de composición en 100 g de queso fresco.*

Calorías (Kcal)	Proteínas (g)	Grasas (g)	Colesterol (mg)	Calcio (mg)	Potasio (mg)	Sodio (mg)	Vitamina D (UG)
200	14,03	14,9	14,5	190,5	200	294	0

Fuente: Gottau (2018)

**Rendimiento:** Se puede indicar que el rendimiento del queso varía al tipo de queso que se requiere obtener y también depende mucho de la composición de la leche con la que va a obtener el queso. Por ejemplo, el rendimiento de la leche en quesos duros esta entre 8 y 14 % y en quesos frescos y blandos entre 12 y 18% podemos calcular mediante el porcentaje de grasa y caseína de la leche (Revilla, 1982).

Según (Arenas, 2019) el rendimiento que ha obtenido en Huamanruro – Puno, es 1 kilo de queso por 8 litros de leche.

Según (Juárez et al., 2011) el rendimiento que obtuvo con 10 litros de leche semidescremada o entera fue de 3 libras de queso fresco, en promedio.

### **3.2.6 Beneficios microbiológicos asociados al queso fresco**

#### **a) Bacterias ácido-lácticas**

En la elaboración del queso, los cultivos lácticos son microorganismos muy importantes para su elaboración del queso y pertenecen a los géneros *Lactobacillus*



*spp* Gram-positivas, forma bacilo., *Leuconostoc spp.* y *Lactococcus spp.* (Sanz, 2021).

*Lactobacillus spp.* Es de género Gram-positivas su forma es de bacilo.

*Leuconostoc sp.* Es de género Gram-positivas y tiene forma de coco y forman cadenas.

*Lactococcus sp.* Es un género de bacterias Gram-positivas con forma de coco aparecen agrupados por pares o realizan cadenas cortas. Los microorganismos descritos no son esporulados pero si son anaerobios facultativos, donde se realizan la fermentación láctica a partir de la leche dando lugar a la elaboración de queso. Por eso, utilizamos para estos cultivos iniciadores en la producción de queso (Sanz, 2021).

- Apoya con su acción de enzimas proteolíticos sobre las micelas de caseína para la formación del cuajo.
- Afecta a la actividad de la plasmina, una proteasa alcalina de la leche que se vuelve inestable cuando el pH se vuelve ácido.
- Inicia la sinéresis del cuajo, para la separación y eliminación del suero de la leche.
- Induce la solubilización del calcio y el fosfato, desestabilizando las micelas de caseína y afectando a la textura del queso.
- Ayuda al queso a retener la sal, afecta el sabor y la sinéresis de las enzimas e obstruye el crecimiento microbiano en el queso.
- Ayuda al queso en su vida útil, según la acción de agua y pH.
- Impide el desarrollo de microorganismos patógenos y destructivos por la acidificación del medio y a la acción de las bacteriocinas.

- Debido al metabolismo del ácido láctico, las propiedades organolépticas del queso se ven afectadas (Sanz, 2021).

#### **b) *Streptococcus Thermophilus***

Es de origen exopolisacáridos y termofílica e incrementa las propiedades reológicas del queso, esta bacteria apoya en la retención de agua para mejorar el rendimiento (Sanz, 2021).

#### **c) *Propionibacterium spp.***

Este ácido ayuda a conservar el queso, también evita la proliferación de hongos dando características aromáticas al queso, es capaz de metabolizar el ácido láctico formando por las bacterias ácido-lácticas para producir ácido propiónico, ácido acético y CO<sub>2</sub> (Sanz, 2021).

#### **d) *Mucor spp.*, *Rizhopus spp.*, *Penicillium spp.*, *Aspergillus spp.***

En algunos quesos mejoran las propiedades organolépticas y son responsables de reacciones de proteólisis y lipólisis, como el metabolismo del lactato durante la maduración del queso, reduciendo la acidez del cuajo y produciendo compuestos químicos que suministran el aroma, la textura y el aspecto de determinados tipos de quesos (Sanz, 2021).

### **3.2.7 Microorganismos patógenos y alterantes que pueden colonizar el queso**

#### **a) *Pseudomonas spp.* y otros microorganismos psicrotrofos**

Tienen enzimas lipasas y proteasas muy estables, la caseína es degradada por su actividad proteolítica y dan lugar a péptidos donde estos producen un sabor amargo. Por otro lado, es capaz de disgregar los lípidos y dan lugar a los ácidos grasos donde ayudan en el su actividad lipolítica es capaz de desintegrar los lípidos dando lugar a ácidos grasos que contribuyen al mejorar sabores desagradables (Sanz, 2021).

### **b) Coliformes**

Produce hinchazón prematura en un tiempo de 24 a 48 horas luego de la producción y salado del queso. Estos microorganismos pueden resultar por falta de higiene en la leche cruda, materiales sucios así como: tuberías, tanques, equipos. Esta bacteria Metaboliza la glucosa originando ácido láctico, ácido acético, etanol, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> (Sanz, 2021).

### **c) Clostridium spp**

Causan una hinchazón tardía metabolizando ácido láctico para dar lugar al ácido butírico, ácido acético, CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub> todo ello da lugar a rajaduras cambios en sus características organolépticas y agujeros en el queso (Sanz, 2021).

### **d) Listeria spp.**

El queso elaborado de leche cruda da lugar a esta bacteria produciendo listeriosis, zoonosis rara y muy grave donde afecta al consumidor como a personas inmunocomprometidas, a niños, embarazadas y personas adultas. Incluye especies patógenas como *Listeria monocytogenes* (Sanz, 2021).

### **e) Levaduras**

Las levaduras normalmente se originan en la salmuera originando una fermentación alcohólica, hinchazón del envase del queso. Donde se metaboliza la lactosa y se produce etanol, ácido acético y CO<sub>2</sub> (Sanz, 2021).

### **f) Bacteriófagos**

Es un virus e infecta a una bacteria específica, provocando una lisis para que no disminuya el pH en consecuencia la leche no se fermenta (Sanz, 2021).

### **g) Mucor spp., Penicillium spp., Aspergillus spp.**

*Aspergillus* sp. Aparecen quesos curados causan cambios en las características organolépticas así como sabores amargos colores extraños, su

ambiente favorable es la humedad puede estar en aguas estancadas, salas de maduración, o en la condensación de vapor de paredes y techos. El género *Penicillium* spp., produce xerosporas, que son esporas hidrofóbicas y, por ello, las corrientes de aire favorecen su diseminación (Sanz, 2021).

### 3.2.8 Coliformes

Son especies bacterianas que tienen indicadores de contaminación en los alimentos y agua, Significa el tipo *Escherichia coli*, en referencia a la bacteria principal de esta flora, *Escherichia coli*, fue descubierta por el bacteriólogo alemán Theodor von Escherich en 1860 y von Escherich la denominó *Escherichia coli* ("bacteria del intestino", del griego κολον, kolon, "intestino") (Castro, 2007).

**Tabla 2.** Clasificación científica

<b>Reino:</b>	<b>Bacteria</b>
Filo:	Proteobacteria
Clase:	Gamma Proteobacteria
Orden:	Enterobacteriales
Familia:	Entebacteriaceae
Géneros	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Escherichia</i></li> <li>• <i>Klebsiella</i></li> <li>• <i>Enterobacter</i></li> <li>• <i>Citrobacter</i></li> </ul>

Fuente: Castro (2007)

#### a) Caracteres bioquímicos de coliforme

Según Castro (2007) el grupo coliforme agrupa a todas las bacterias entéricas que tienen características según estas propiedades bioquímicas.

- Aerobias o anaerobias facultativas
- bacilos Gram negativos
- Oxidasa negativos
- No ser esporógenas
- Fermentar la lactosa a 35 °C en 48 horas, produciendo ácido láctico y gas.

### **b) Hábitat del grupo coliforme**

Su hábitat de esta bacteria son animales de sangre caliente los homeotermos donde también estamos incluidos, también lo encontramos en la naturaleza se origina en las heces de humanos y animales ósea de origen fecal. También existe coliformes de vida libre (Castro, 2007).

### **c) Los coliformes como indicadores**

Las heces de animales y humanos o el origen fecal es un indicador clave para determinar presencia de coliforme. El grupo coliformes ha sido dividido en dos grupos: coliformes totales y coliformes fecales (Castro, 2007).

- **Coliformes totales:** Se refiere a la totalidad del grupo coliforme, y se utiliza para evaluar la calidad de la leche pasteurizada y podemos encontrarlos en el aire el agua, el suelo y alimentos (Castro, 2007).
- **Coliformes fecales,**

Esta bacteria integra el grupo de los coliformes totales, son termotolerantes y se diferencian cuando son indol positivo, su temperatura óptima para su desarrollo es muy amplio (hasta 45 °C) y son la clave para ver los indicadores de higiene en los alimentos y el agua. La presencia de esta bacteria es un indicador de contaminación fecal de origen humano o animal, ya que las heces contienen coliformes termotolerantes que están presentes en la microbiota intestinal, siendo *E. coli* la más representativa, con un 90-100 % (Larrea et al., 2013).

### **d) Bacterias que integran el grupo coliforme**

Según Castro (Castro, 2007) el grupo coliforme está formado por los siguientes géneros.

- *Escherichia coli*

- *Klebsiella*
- *Enterobacter*
- *Citrobacter*

No todos los autores incluyen al género *Citrobacter* dentro del grupo coliforme.

### 3.2.9 *Escherichia coli*

Esta bacteria habita en el tracto gastrointestinal tanto de animales como de humanos y puede estar en ambientes contaminados con heces (Lobos et al., 2021).

Según Parra (Parra, 2020) en cuanto a la toxina que este microorganismo produce puede ser muy variado, existe 5 tipos o clones de *E. coli*:

- ✓ **Enteropatógena.** – Causa diarrea secretora, asociado a la fiebre si no se controla conduce a la deshidratación y luego la muerte (Parra, 2020).
- ✓ **Enterotoxigénica.** – Causa de 8 a 12 evacuaciones al día por un periodo de 4 a 5 días y causa la llamada diarrea del viajero (Parra, 2020).
- ✓ **Enteroagregativa.** – Causa cuadros de diarreas persistentes que duran más de 14 días y están acompañadas de moco y sangre también puede presentar fiebre en bajo grado (Parra, 2020).
- ✓ **Enteroinvaca.** – Puede producir evacuación en poca cantidad acompañado de moco y sangre dolor abdominal tipo cólico y fiebre (Parra, 2020).
- ✓ **Enterohemorrágica.** – podemos describir a una de las *Escherichiacolis* más peligrosas en nuestro organismo hablamos de la O157H7 ES Un patógeno entérico y principal causante del síndrome urémico hemolítico causa diarrea brusca con dolor abdominal y descarga hemorrágica que posteriormente puede llevar a una anemia o a causar insuficiencia renal crónica. (Parra, 2020).

- ✓ ***Escherichia coli* O157** se descubrió por primera vez como patógeno humano en 1982. *E. Coli* O157 Lo encontramos en las heces de los animales sanos donde la transmisión a humanos es a través del agua o alimentos contaminados con residuos fecales o por contacto directo con personas o animales contagiados. La infección humana puede ser asintomática o con diarrea no sanguinolenta, síndrome urémico hemolítico, colitis hemorrágica y muerte. *E. coli* O157 las personas también puede contagiarse por consumir carnes molidas semi cocidas, jugos y leche sin pasteurizar y por no lavarse las manos (Mead & Griffin, 1998).

#### **3.2.9.1. Medio de cultivo para *Escherichia coli***

Las Placas Petrifilm para el Recuento de *E.coli* / *Coliformes* (Placa Petrifilm, EC) contienen nutrientes de Bilis Rojo-Violeta (VRB), es un agente gelificante que es soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucoronidasa y también facilita enumerar las colonias. Se vio en mayor cantidad de *E. coli* (en un 97%) causa beta-glucoronidasa, y al mismo tiempo produce una precipitación azul asociada a la colonia. La parte superior tiene la función de atrapar gas producido por *E. coli* y coliformes que son los fermentadores de lactosa. El 95% de las bacterias de *E. coli* producen gas, donde se representa por colonias de color entre azules y rojo-azules conjuntamente con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia) El tiempo para incubar y temperatura para *E. coli*: es de 48 h ± 2 h a 35° C ± 1 o C (Placas Petrifilm, 2006).

#### **3.2.10 *Salmonella***

Este género pertenece a la familia Enterobacteriaceae, tienen forma de bacilos y son Gram negativos, de 0,7-1,5 x 2-5 µm, anaerobios facultativos, no forman de esporas, habitualmente se movilizan a través de sus flagelos peritricos (excepto *S.*

*gallinarum*). Fermentan glucosa, maltosa y manitol, pero no fermentan lactosa ni sacarosa. Son generalmente catalasa positiva, oxidasa negativa y reducen nitratos a nitritos (ANMAT et al., 2011).

Se encuentra en los intestinos de animales de sangre caliente sanos, el indicador de contaminación son los residuos fecales presentes en el alimento o agua, este patógeno se multiplica rápidamente y es causa por el cual un alimento con esta bacteria causa una infección gastrointestinal, la "Salmonelosis" (Alfaro, 2018).

En la actualidad se habla de dos *Salmonellas* solamente: *S. bongori* y *S. entérica*. La especie *Salmonella* entérica contiene las subespecies: *Salmonella* entérica sub *sp. entérica* (I), *Salmonella* entérica sub *sp. salamae* (II), *Salmonella* entérica sub *sp. arizonae* (IIIa), *Salmonella* entérica sub *sp. diarizonae* (IIIb), *Salmonella* entérica sub *sp. houtenae* (IV) y *Salmonella* entérica sub *sp. indica* (VI), mientras que la especie *S. bongori* (V) no posee subespecies asociadas, siendo esta originalmente clasificada como subespecie de *S. entérica*, y por eso mantiene la denominación "V" (Alfaro, 2018).

### **3.2.10.1. Clasificación y taxonomía de *Salmonella***

Desde el punto de vista epidemiológico *Salmonella sp.* se puede clasificar en tres grupos (Caffer & Terragno 2001).

- No tienen preferencia por ningún hospedero en especial e infectan a los animales y al hombre en este grupo se encuentran la mayoría de las serovariedades responsables de las salmonelosis (Caffer & Terragno 2001).
- *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A* y *Salmonella paratyphi C* infectan solamente al hombre y se contagian en forma directamente o



indirectamente, puede ser de una persona a otra (Caffer & Terragno 2001).

- Este tipo de *Salmonella* requiere de un hospedero especialmente de los animales así como: *S. abortusovis*, infecta a ovinos; *S. abortusequi*, infecta equinos y *S. gallinarum*, infecta directamente a las aves. Estos cuantiosos serotipos de *Salmonellas* presentan distintas patogeneidad y virulencia y se clasifican de acuerdo a su adaptación en el hospedador como indica en el cuadro (Caffer & Terragno 2001).

**Tabla 3.** Serotipos de *Salmonella sp.* adaptados según la especie

Humano	Animales	Varias especies
<i>S typhi</i>	Aves: <i>S. pullorum</i> y <i>S. gallinarum</i>	<i>S. enteritidis</i>
<i>S. paratyphi A, B y C</i> <i>S. sendai</i>	Vacuno: <i>S. dublin</i>	<i>S. typhimurium</i>
	Ovino: <i>S. abortusovis</i>	
	Equino: <i>S. abortus equi</i>	
	Cerdo: <i>S. cholerasuis</i>	

Fuente: Caffer & Terragno (2001).

### 3.2.10.2 Condiciones de vida de la *Salmonella*

La *Salmonella* no soporta temperaturas de 70 °C o superior empieza a morir, pero las condiciones apropiadas para su desarrollo es de < 7 °C en un pH de 3,8 y una actividad acuosa de 0,94 (Alfaro, 2018).

**Tabla 4.** Parámetro de vida de *Salmonella sp.*

Parámetro	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura	2-4 °C	35-37 °C	54 °C
pH	4	6,5-7,5	9
NaCl	0,4%	0	4
Actividad acuosa	0,94	0,99	0,99

Fuente: Alfaro (2018)

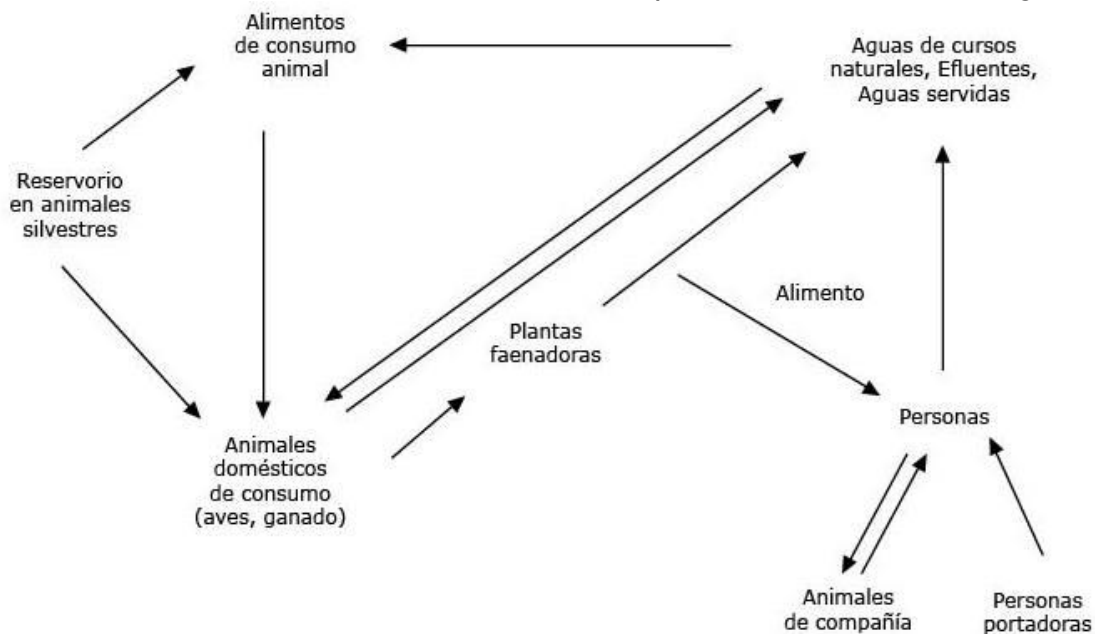
### 3.2.10.3 Epidemiología de *Salmonella*

Se considera como una zoonosis o sea se puede transmitir de los animales al hombre, sin embargo el foco de infección se encuentra en el intestino de los animales, más que todo en las aves de granja y también animales estabulados, algunos autores también indican que se dan por los animales salvajes, en la diseminación de este microorganismo en el medio ambiente (Goope & Jose, 2014).

### 3.2.10.4 Transmisión de *Salmonella*

La *S. typhi* y la *S. paratyphi* colonizan únicamente a los humanos, donde el contagio se da de un hombre infectado a otro así como la fiebre tifoidea donde se ve con mayor frecuencia en los países en desarrollo, manejo inapropiado de desechos existe un rápido crecimiento de la población, aumento de la urbanización, y fuentes de agua potable en mal estado. La *Salmonella* no-typhi se da por consumir alimentos de origen animal con estos microorganismos (Alfaro, 2018).

*El ciclo de transmisión de Salmonella se puede observar en esta figura.*



Fuente: Alfaro (2018)

La transmisión depende de una serie de factores predisponentes que se ven en el ámbito gastrointestinal y sistémico (Alfaro, 2018).

- **Gastrointestinales:** Según Alfaro (2018) aclorhidria, uso previo de antibióticos y medicamentos que disminuyen la motilidad (Ejemplo: Anticolinérgicos).
- **Sistémicos:** SIDA, Linfomas, Anemias hemolíticas (sobrecarga de hierro), uso de corticoides, Schistosomiasis, lupus eritematoso sistémico, trasplante de órganos y deficiencia congénita de interferón y de interleucina 12 o sus receptores (Alfaro, 2018).

#### **3.2.10.5 Diagnóstico de la Salmonelosis**

Se puede diagnosticar viendo estas causas en un paciente: Diarrea, Fiebre, Escalofríos, Vómitos, Náuseas, Dolor de cabeza, Calambres abdominales, Sangre en las heces. Algunas variedades de la bacteria *Salmonella* provocan fiebre tifoidea, donde esta enfermedad puede ser mortal y lo vemos con más frecuencia en países de desarrollo (Mayo Clinic, 2021).

Los síntomas se ven entre 6 a 72 horas luego de consumir un alimento contaminado con la bacteria y dura de 5 a 7 días y la mayor parte de los infectados no necesitan tratamiento, pasado el tiempo de duración se mejoran poco a poco (Parra et al., 2002).

#### **3.2.10.6 Cultivos de *Salmonella***

Existen muchos métodos para aislar *Salmonella sp.* que son de uso universal. El establecimiento progresivo de programas para la garantía externa de la calidad ha impulsado la utilización creciente de métodos estándar, como la norma ISO 6579:2002; que se estableció para los alimentos y los forrajes. Lo esencial del método

estándar es el pre-enriquecimiento en agua de peptona tamponada, el enriquecimiento en caldo tetrionato y la adición de 10 ml de caldo selenito – cistina (OIE, 2008).

**Medios selectivos de *Salmonella*:** El sistema 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express (SALX) es una prueba cualitativa contiene agentes selectivos para poder detectar patógenos donde la detección es más rápida y se puede confirmar con una prueba bioquímica de *Salmonella* en muestras enriquecidas de alimentos y ambientes de plantas de alimentos. A una temperatura de 41.5°C durante 24 horas (3M Company, 2014).

### 3.2.11 *Staphylococcus aureus*

Son células esféricas en forma de esfera son Gram positivas y están distribuidas en grupos irregulares a manera de racimos de uva; Tiene un diámetro cerca de un micrón, es un microorganismo inmóvil y no esporulan. Si se ve *Staphylococcus aureus* en alimentos podemos ver un indicador de contaminación a partes de la piel, boca y fosas nasales de los que manipularon el alimento y falta de higiene en los materiales y equipos que utilizaron. Estos microorganismos crecen normalmente en medios bacteriológicos en condiciones aerobias, producen catalasa, fermentan muchos carbohidratos con lentitud y producen ácido láctico, pero no producen gas. Se desarrolla rápido a 37 °C, pero forman su pigmentación mejor a temperatura ambiental, de 20 a 25 °C; tiene colonias de color gris a amarillo dorado intenso. Se identificó varios tipos serológicos que se denominan A, B, C, D, E, F, G y H. Esta bacteria no cambia el olor ni el sabor de un alimento. Las toxinas son termoestables pueden soportar hasta una hora a 100 °C; se ven poco afectadas por la deshidratación y las radiaciones gamma. En general, los tipos que más resisten son la A y la B. La enterotoxina A es la que se agrupa más con brotes de intoxicación

alimentaria, por lo tanto las toxinas resisten, a pesar de que la bacteria ha muerto durante la elaboración del alimento. Para prevenir las bacterias tiene que haber higiene personal de los que manipulan los alimentos y al mismo tiempo la temperatura. La temperatura óptima para almacenar debe ser menor a 6,6 °C o superior a 60 °C, cuando se dejan en una tabla de vapor de agua para ser consumidos (Kopper et al., 2009).

*Staphylococcus aureus* Se encuentra diseminado en el ambiente y tiene características específicas de virulencia y resistencia contra antibióticos, donde puede presentar graves problemas de salud en el hombre, causa muchas enfermedades infecciosas principalmente por las cepas de *S. aureus*, donde son muy resistentes a la meticilina (MRSA) y otros antibióticos donde antes eran eficaces contra el tratamiento de las infecciones (Zendejas et al., 2014).

### **3.2.11.1 Familia Staphylococcaceae**

*Staphylococcus aureus* pertenece a la familia Staphylococcaceae. Afecta especialmente a los mamíferos, incluido al hombre. Además, *S. aureus* se puede contagiar fácilmente de una especie a otra. Quiere decir la transmisión puede ser entre animales y humanos (Mandal, 2019).

### **3.2.11.2 Intoxicación alimentaria por *Staphylococcus aureus***

La intoxicación alimentaria por estafilococos se produce por consumir comidas contaminadas donde contenían toxinas de tipo de *Staphylococcus* causando vómitos y diarrea (Boyce, 2019).

También se puede contagiar una persona mediante gotitas de aire o aerosol del medio ambiente, Esto ocurre cuando una persona infectada empieza a estornudar

y toser, libera muchas gotitas de saliva que se mantienen suspendidas en el ambiente.  
(Mandal, 2019)

### 3.2.11.3 Síntomas

La intoxicación alimentaria por estafilococos se da de un momento a otro con muchos vómitos y náuseas fuertes en un tiempo de 2 a 8 horas después de haber consumido un alimento contaminado. Otros síntomas particulares son dolores abdominales, dolor de cabeza, diarrea y fiebre. Todo ello puede causar la deshidratación y bajar la presión arterial (Boyce, 2019).

Esta bacteria puede ser mortal, en personas adultas, niños o personas con enfermedades prolongadas (Boyce, 2019).

### 3.2.11.4 Medios de cultivo y análisis microbiológico para *Staphylococcus aureus*

Una opción son las Placas Petrifilm Staph Express que sirven para el recuento de *Staphylococcus aureus*, es un medio de cultivo para su uso inmediato, contiene un agente gelificante soluble en agua fría. El medio modificado cromogénico Baird-Parker en la placa, es selectivo y diferencial para el *Staphylococcus aureus*. Si se observa colonias rojo-violetas en la placa son *S. aureus*, su incubación es de 24 h  $\pm$  2 h a 35 °C  $\pm$  1 °C ó 37 °C  $\pm$  1 °C (3M, 2017).

También se pueden usar otras pruebas bioquímicas. Esta identificación se fundamenta en las enzimas y las toxinas y produce microorganismos. Que son Baird-Parker, agar salado manitol, agar estafilococos N° 110, agar DNAs (Zendejas et al., 2014)

- **Agar Salado Manitol.** Es utilizado para el aislamiento selectivo de *Staphylococcus aureus*. El agar sal manitol tiene una concentración de cloruro

sódico de 7.5%, es un agente activo del medio e inhibe parcial o total a las bacterias diferentes de los estafilococos. Los estafilococos coagulasa (+) (*Staphylococcus aureus*) tienen colonias de color amarillo y un medio circundante de color amarillo, mientras que los estafilococos negativos a la coagulasa producen colonias de color rojo y no generan cambios en el color del indicador rojo fenol (Zendejas et al., 2014).

### **3.2.12 Peligros microbiológicos, químicos y físicos para el consumidor de queso fresco artesanal**

#### **a) Peligros microbiológicos**

Existen microorganismos benéficos para fermentar lácteos, también existen microorganismos que descomponen los alimentos y últimamente tenemos a los microorganismos patógenos que ocasionan enfermedades (Lobos & Pavez, 2021).

#### **b) Peligros químicos**

Podemos encontrar estos peligros en varios productos como productos de las veterinarias, residuos durante la limpieza, agroquímicos en la alimentación del ganado y puedan contaminar la leche para evitar debemos (FAO, 2003).

- Llevar registros de su existencia y utilización.
- En el caso de fármacos respetar dosis de aplicación y periodos de carencia, fechas de vencimiento.
- Guardar productos en sitio separado a las materias primas del queso Según la (FAO, 2003).

#### **c) Peligros físicos**

Pueden contaminar la materia prima o sea la leche o nuestro producto final que sería el queso, pueden ser orgánicos o inorgánicos también podemos

encontrar estos peligros en restos de material de limpieza o durante la elaboración de los quesos (Lobos et al., 2021).

Para evitar contaminación debemos tener en cuenta la limpieza desde el ordeño, todo el proceso de elaboración y su distribución al consumidor (Lobos & Pavez, 2021).

### **3.2.13 Enfermedades transmitidas por alimentos ETA**

Las ETA es causada por consumir alimentos contaminados con microorganismos patógenos, como *Salmonella*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* *Shigella*, el virus de la hepatitis A, *Trichinella spirallis* y otros. Las ETA principalmente son causadas por alimentos de origen animal. En los años de 1973 y 1987 en los Estados Unidos de América (EUA), el 48% de los productos involucrados eran carne de bovino, huevo, carne de porcino, carne de aves, mariscos y productos lácteos. Organización panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud (OPS & OMS, 2003).

### **3.2.14 Buenas prácticas de manufactura**

Las buenas prácticas de manufactura es un requisito para la parte agroalimentaria para que el alimento sea inocuo, sano, saludable un alimento de calidad, para lograr un alimento de calidad cada productor industrial y manipuladores de alimento deben tener en cuenta la correcta elaboración y manipulación con el alimento. Para que esto se cumpla existen requisitos y leyes que son básicos para manipular los alimentos y aplicar las BPM así obtener alimentos inocuos o de calidad (Aleu et al., 2018).



### 3.2.15 Criterios microbiológicos según el Ministerio de Salud

El ministerio de salud nos da sus criterios microbiológicos para alimentos y bebidas, esto con el fin de cumplir en su totalidad estos criterios de acuerdo al grupo o sub grupo y así un alimento sea considerado apto o no apto para el consumidor (Ministerio de Salud, 2008).

**Tabla 5.** *Criterios microbiológicos para quesos no madurados*

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	C	Limite por g	
					m	M
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	10 <sup>2</sup>
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	3	10
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia/25 g	

Fuente: MINSA (2008)

#### Leyenda

“**Categoría:** Grado de riesgo que presentan los microorganismos en relación a las condiciones previsibles de manipulación y consumo del alimento” (MINSA, 2008).

“**n (minúscula):** Número de unidades de muestra seleccionadas al azar de un lote, que se analizan para satisfacer los requerimientos de un determinado plan de muestreo (MINSA, 2008).

“**c**” Número máximo permitido de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases o número máximo de unidades de muestra que pueden contener un número de microorganismos comprendidos entre “m” y “M” en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecte un número de unidades de muestra mayor a “c” se rechaza el lote (MINSA, 2008).

**“m (minúscula):** Limite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a “m”, representa un producto aceptable y los valores superiores a “m” indican lotes aceptables o inaceptables (MINSA, 2008).

**“M (mayúsculas):** Los valores de recuentos microbianos superiores a “M” son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud” (MINSA, 2008).

## CAPITULO IV

### METODO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION

#### 4.1. Ubicación espacial y temporal de la investigación

##### 4.1.1 Ámbito de Investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el mercado central de San Pedro, distrito Cusco, región Cusco.

**Figura 3.** Ubicación del mercado Central de San Pedro en el mapa google Earth



**Zona de investigación**

Fuente: (Google Earth Pro, 2021), Fecha:8/11/2021

Coordenadas: -13°31'15.46", -71°58'57.60" (Google Earth Pro, 2021)

#### **4.1.2 Ubicación política**

- País : Perú
- Región : Cusco
- Provincia : Cusco
- Distrito : Cusco
- Localidad : Mercado central de San Pedro – Cusco

#### **4.1.3 Ubicación geográfica**

- Latitud sur : 13°31'15.46"
- Longitud oeste : 71°58'57.60"
- Elevación : 3415 msnm

Fuente: (Google Earth Pro, 2021)

#### **4.2. Tipo de investigación**

La investigación es básica, descriptivo, no experimental y transversal, debido a que las variables del estudio se midieron una sola vez y con esa información se realizó el análisis. La medición y el análisis fue cualitativo y cuantitativo.

#### **4.3. Equipos y materiales**

##### **4.3.1 Población**

La población estuvo conformado por 20 moldes de queso fresco artesanal, que se muestrearon al azar en los diferentes puestos del mercado central de San Pedro – Cusco.

##### **4.3.2. Muestra**

Durante la evaluación microbiológica en laboratorio las muestras fueron: Para determinar el recuento de *E. coli* se utilizó 10 g de queso fresco artesanal por cada

muestra, para determinar presencia o ausencia de *Salmonella* se utilizó 25 g de queso fresco artesanal por cada muestra y para determinar el recuento de *Staphylococcus aureus* se utilizó 10 g de queso fresco artesanal por cada muestra.

#### 4.3.3. Equipos de laboratorio

- Cabina de flujo laminar (Biobase)
- Autoclave (Prestige medical)
- Incubadora (Mettler)
- Balanza de precisión (Kern, Ninbus)
- Contador de colonia (Shuett biotec)
- Microscopio (Leica)
- Refrigeradora (LG)
- Medidor de pH (Metrohm)
- Agitador Vórtex - genie

#### 4.3.4. Materiales de laboratorio

- Placas Petrifilm™ para recuento de *E. coli/Coliformes*
- 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus*
- 3M™ Agua de peptona Buferada ISO 500 g.
- Placas 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express (SALX)
- 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* 500 g
- 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para *Salmonella* frasco 1 g
- Difusor 3M™ Petrifilm™ para cada bacteria
- Agua destilada

- Asa desechable de 10 uL (3 mm de diámetro)
- Matraz de Erlenmeyer de 1000 ml, 500 ml y 250 ml
- Pipeta electrónica graduada de 10 ml
- Micropipeta electrónica con punta desechable de 1 ml
- Tubos de ensayo de 150 x 16 (23 ml)
- Probeta 250 ml
- Porta objeto
- Cubre objeto
- Aceite de inmersión
- Alcohol 96°
- Algodón
- Pabilo
- Cristal violeta
- Azul de metileno
- Papel toalla
- Mechero bunsen
- Gradillas
- Piseta
- Vaso precipitado de 50 ml
- Papel kraff
- Algodón
- Tenedor y cuchillo de plástico paquete de 100
- Mandil
- Guantes desechables
- Barbijo

- Gorros desechables de laboratorio
- Muestra de queso
- Bolsas tipo ziploc

#### **4.3.5 Materiales de escritorio**

- Bolígrafo
- Cuaderno de anotes
- Papel bond A 4
- Laptop
- Impresora
- Cámara fotográfica
- Marcador indeleble

### **4.4. Metodología**

#### **4.4.1 Método de toma de muestras de quesos frescos artesanales**

Las muestras de quesos frescos artesanales, se tomaron en el mercado central de San Pedro Cusco, donde se realizó la compra de un molde de queso al azar por cada puesto. Dichas muestras se colocaron en bolsas tipo ziploc de primer uso debidamente rotulados, Seguidamente las muestras se llevaron al laboratorio institucional de investigación de Sanidad Animal “M.V. Atilio Pacheco Pacheco”, de la Escuela Profesional de Zootecnia - Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, para su respectiva evaluación microbiológica.

#### **4.4.2 Método de laboratorio**

##### **4.4.2.1 Preparación de materiales**

- Se inició con la desinfección de los equipos y toda el área a trabajar.

- Se realizó el lavado de los materiales de vidrio (tubos de ensayo, matraz Erlenmeyer, probeta graduada, pipeta graduada) con agua destilada; y se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Se esterilizó con rayos UV en la cabina de flujo laminar por media hora todos los materiales de plástico, equipos, marcadores, gradillas, papel toalla, pipetas desechables de 1ml y mechero.

#### **4.4.2.2 Metodología para determinar el recuento de *Escherichia coli*, en quesos frescos artesanales, según el método reconocido por la AOAC™ internacional como método oficial de análisis de las Placas 3M™ Petrifilm™**

##### **4.4.2.2.1 Fundamento de las Placas Petrifilm para el Recuento de *E. Coli* / Coliformes**

La parte donde se desarrollan los microorganismos está hecha de una película intermedia de espuma y en la parte de arriba se completa con otra lámina de polipropileno que tiene gel soluble en agua fría y tricloruro de trifenil tetrazolio (TTC) que trabaja como indicador redox cambiando de color cuando pasa de su forma oxidada a reducida o viceversa, asimismo está elaborada con una lámina de papel impreso con cuadros y cubierto de polipropileno, contiene nutrientes del medio VRBG agar utilizado para enumerar coliformes en los lácteos compuesto por extracto de levadura, peptona, sales biliares, lactosa, cloruro de sodio, rojo neutro, cristal violeta, el indicador 5-bromo-4-cloro-3-indolil-beta-D-glucoronido (BCIG) y un agente gelificante soluble en agua fría. Esto debido a que. La mayor parte de las *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucoronidasa y a la vez causa una precipitación azul asociada con la colonia. La película de la parte de arriba atrapa gas que produce la *E. coli* y



*Coliformes* fermentadores de lactosa, por eso las colonias se ven entre azules y rojo-azules asociadas a gas atrapado en las placas (Placas Petrifilm, 2006).

#### **4.4.2.2 Procedimiento para el aislamiento de *Escherichia coli***

*Según la metodología* (Placas Petrifilm, 2006).

1. Se pesó 51 g de 3M™ agua de peptona buferada ISO deshidratado para 2000 ml de agua destilada, la cantidad pesada se calculó según la proporción de 25.5 g de medio de cultivo deshidratado por litro de agua destilada, y considerando el volumen suficiente para el análisis de 20 muestras de queso fresco artesanal.
2. Se preparó el diluyente 3M™ agua de peptona buferada ISO deshidratado. En un matraz de Erlenmeyer se vertió 2000 ml de agua destilada estéril y se agregó 51 g de 3M™ agua de peptona buferada ISO deshidratado. La solución se homogenizó con la ayuda de un agitador vortex.
3. El diluyente 3M™ Agua de peptona Buferada ISO se esterilizó en matraces de 500 ml, en autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos.
4. Se cortó y se pesó 10 g de queso fresco artesanal. Se colocó en una bolsa estéril de primer uso ziploc y se cerró inmediatamente.
5. Se trituró la muestra de queso fresco artesanal cuidadosamente dentro de la bolsa ziploc con la mano, se trabajó al lado de un mechero encendido y dentro de la cabina de flujo laminar, con la finalidad de evitar la contaminación.
6. Se midió 90 ml de diluyente estéril 3M™ agua de peptona buferada ISO. Luego se vertió el diluyente, previamente enfriado, dentro de cada bolsa ziploc conteniendo el queso triturado.

7. Se homogenizó bien la muestra más el diluyente 3M™ agua de peptona buferada ISO, utilizando un vortex.
8. Se midió el pH de la muestra diluida. El rango del pH de las muestras varió de 6.6 y 7.2, encontrándose dentro del rango normal.
9. Para cada muestra se usó 3 tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril para las diluciones correspondientes.
10. A continuación, se realizó las diluciones hasta llegar a la dilución  $10^{-4}$ . Considerando que la primera dilución  $10^{-1}$  es la mezcla de queso y diluyente 3M™ agua de peptona buferada ISO.
11. Se realizó la dilución  $10^{-2}$  para lo cual se agregó 1 ml de la dilución  $10^{-1}$  al tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada, y se mezcló bien con el agitador vortex.
12. Se realizó la dilución  $10^{-3}$ , para lo cual se agregó 1 ml de la dilución  $10^{-2}$  al tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada, y se mezcló bien con el agitador vortex.
13. Se realizó la dilución  $10^{-4}$ , para lo cual se agregó 1 ml de la dilución  $10^{-3}$  a un tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada, y se mezcló bien con el agitador vortex, esta dilución se utilizó para el análisis microbiológico de cada muestra.
14. Se colocó las Placas Petrifilm™ para recuento de *E. coli/Coliformes* en una superficie plana y nivelada al costado de un mechero encendido.
15. En forma perpendicular a la placa Petrifilm, se colocó 1ml de la dilución  $10^{-4}$  de la muestra de queso fresco artesanal, en el centro de la película cuadrículada inferior, con la pipeta electrónica.

16. Se bajó con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire, sin dejar caer.
17. Con el lado liso hacia abajo, se colocó el dispersor en la película superior sobre el inóculo y se presionó suavemente el dispersor, para poder distribuir el inóculo sobre el área circular, luego sin girar ni deslizar se levantó el dispersor. Se esperó 1 minuto hasta que solidifique el gel.
18. Se preparó la incubadora disponiendo de agua destilada en un vaso precipitado para mantener la humedad.  
  
Luego se llevó todas las placas inoculadas a incubar cara arriba según AOAC método oficial 991.14 durante  $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  a  $35^\circ \text{ C} \pm 1$  o  $35^\circ \text{ C}$ .
19. Pasado las 48 horas, se realizó el recuento de las colonias usando el contador de colonias. El recuento de las colonias se realizó en las placas que presentaron colonias positivas, es decir, colonias azules con gas.
20. Inmediatamente se hizo el frotis de las colonias desarrolladas en las placas.
21. Se observó al microscopio a 100 X.

#### **4.4.2.3 Metodología para determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* en quesos frescos artesanales, Según el método reconocido por la AOAC™ internacional como método oficial de análisis de las Placas 3M™ Petrifilm™**

##### **4.4.2.3.1 Fundamento de las placas 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express (SALX)**

Esta placa tiene un medio de cultivo cromogénico con un agente gelificante que es soluble en agua y es diferencial y selectivo para *Salmonella*, esta placa se usa conjuntamente con estos insumos adicionales: 3M™ base para Enriquecimiento de *Salmonella* que ayuda en la recuperación y el desarrollo de las especies de

*Salmonella* y el Suplemento para el Enriquecimiento de *Salmonella* 3M™. El caldo R 10 (R-V R 10) cuya fórmula típica es: (Science. Applied to Life, 2013).

- Cloruro magnésico (anhidro) 13,4 gramos
- Cloruro de sodio 7,2 gramos
- Peptona caseína 4,54 gramos
- Fosfato monopotásico 1,45 gramos
- Verde de malaquita 0,036 gramos
- Agua desmineralizada 1000,0 ml
- pH 5,1 más menos 0,2 a 25°C

El medio de cultivo Rappaport-Vassiliadis: contiene un sistema buffer de fosfatos, mucha concentración de sales de magnesio y sodio y la presencia del colorante verde de malaquita (oxalato). Las especies de *Salmonella* tienen capacidad de multiplicarse y sobrevivir a presiones osmóticas aproximadamente altas esto ocurre por el contenido de cloruro de magnesio en el medio y un pH aproximadamente bajo además se elimina el efecto tóxico del verde de malaquita hacia la *Salmonella* esto sucede por la presencia de cloruro de magnesio. La incubación de 41 a 42 °C es favorable para la selectividad en esta bacteria (Britania, 2021b).

#### **4.4.2.3.2 Procedimiento para aislamiento de *Salmonella***

*Según la metodología* (Placas Petrifilm, 2006).

1. Se pesó 185 g de 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* deshidratado. La cantidad pesada se calculó según la proporción de 37 g. de medio de cultivo deshidratado por litro de agua destilada, y considerando el volumen suficiente para el análisis de 20 muestras de queso fresco artesanal.

2. Se preparó el diluyente 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* deshidratado. En un matraz de Erlenmeyer se vertió 5000 ml agua destilada estéril y se agregó 185 g de 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* deshidratado. La solución se homogenizó con la ayuda de un agitador vortex.
3. El diluyente 3M™ enriquecimiento base para *Salmonella* se esterilizó en matraces de 500 ml, en una autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos.
4. Se enfrió el medio 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* aproximadamente a 25°C, Se midió el pH; el rango del pH de las muestras se encontró dentro del rango ideal (7.0±0.2).
5. Se agregó asépticamente 0.25 g de 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para *Salmonella* a los 5000 ml de caldo estéril 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* a 25°C.
6. Se homogenizó la solución con la ayuda del agitador vortex.
7. Se cortó y se pesó 25 g de queso fresco artesanal. Se colocó en una bolsa ziploc estéril; y se cerró inmediatamente la bolsa.
8. Se trituró la muestra de queso fresco artesanal cuidadosamente dentro de la bolsa ziploc con la mano, se trabajó al lado de un mechero encendido y dentro de la cabina de flujo laminar, con la finalidad de evitar contaminación.
9. Se midió 225 ml del medio diluyente 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* y 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para *Salmonella*. Luego, se agregó el medio dentro de cada bolsa ziploc conteniendo el queso triturado.

10. Se homogenizó bien la muestra más el medio diluyente 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* y 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para *Salmonella*.
11. Se incubó las muestras enriquecidas a 41.5°C durante 24 horas.
12. Después de la incubación se enfrió las muestras enriquecidas.
13. Se colocó las Placas 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express (SALX) en una superficie plana y nivelada.
14. Se colocó 2 ml de diluyente estéril (agua destilada) sobre el centro de la película inferior de la placa Petrifilm, con la pipeta electrónica.
15. Se dejó caer suavemente la película superior sobre el diluyente para evitar atrapar burbujas de aire.
16. Se colocó el dispersor plano en el centro de la placa y se presionó ligeramente el centro del difusor para distribuir el diluyente de manera uniforme, sin girar ni deslizar se levantó el dispersor.
17. Se colocó las placas Petrifilm hidratadas en una superficie plana, nivelada y estéril durante 1 hora a temperatura ambiente (20 – 25°C) protegida de la luz para que se forme el gel.
18. Se sembró las muestras enriquecidas en las placas Petrifilm, con un asa estéril desechable de 3 mm de diámetro, para lo cual se transfirió el volumen completo del asa y distribuyó en forma de estrías desde la parte superior hasta la parte inferior de la placa.
19. Se bajó la película superior para cerrar la placa Petrifilm, sin formar burbujas.
20. Se preparó la incubadora disponiendo de agua destilada en un vaso precipitado para mantener la humedad. Luego, se llevó todas las placas

inoculadas a incubar en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba a una temperatura de 41.5°C durante 24 horas.

21. Pasado las 24 horas, se realizó el recuento de colonias usando el contador de colonias. El recuento de las colonias se realizó en las placas que presentaron colonias positivas, es decir, aquellas que presentan coloración roja con zona amarilla y asociada a burbujas de gas, colonia roja con zona amarilla y colonia roja asociada a burbuja de gas sin zona amarilla.

22. El resultado se obtuvo en base a presencia y ausencia de *Salmonella*.

#### **4.4.2.4 Metodología para determinar el recuento de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales, Según el método reconocido por la AOAC™ internacional como método oficial de análisis de las Placas 3M™ Petrifilm™**

##### **4.4.2.4.1 Fundamento de las Placas Petrifilm Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus***

Este medio está elaborado a base de un agente gelificante soluble en agua fría. Tiene un medio modificado cromogénico Baird-Parker en cada placa, es diferencial y selectivo para la bacteria de *Staphylococcus aureus* que se identifica observando colonias rojo-violetas en la placa (3M, 2017).

Baird-Parker es un medio de cultivo muy nutritivo donde la peptona de caseína y el extracto de carne forman la fuente de C y N. El extracto de levadura contribuye con vitaminas del complejo B así como la glicina y piruvato, estos ayudan en el desarrollo de los *Staphylococcus*. Este agar es un agente solidificante que admite el desarrollo selectivo ya que el telurito de potasio y el cloruro de litio que inhiben el desarrollo de la flora acompañante presente en la muestra. La yema de huevo accede a manifestar la acción de lecitinásica de los microorganismos. Los estafilococos

coagulasa (+) reducen el telurito a telurio dando lugar a colonias de color grisáceo-negro y tienen una acción lecitínásica, por esa razón actúan sobre la yema de huevo ocasionando un halo claro en torno a la colonia (Britania, 2021a).

#### **4.4.2.4.2 Procedimiento para aislar *Staphylococcus aureus***

Según a la metodología de (3M, 2017)

1. Se pesó 51 g. de 3M™ agua de peptona buferada ISO deshidratado. La cantidad pesada se calculó según la proporción de 25.5 g de medio de cultivo por litro de agua destilada estéril, y considerando el volumen suficiente para el análisis de 20 muestras de queso fresco artesanal.
2. Se preparó el diluyente 3M™ agua de peptona buferada ISO deshidratado. En un matraz de Erlenmeyer se vertió 2000 ml de agua destilada estéril y se agregó 51 g de 3M™ agua de peptona buferada ISO deshidratado. La solución se homogenizó con la ayuda de un agitador vortex.
3. El diluyente 3M™ agua de peptona buferada ISO se esterilizó en matraces de 500 ml, en una autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos.
4. Se cortó y se pesó 10 g de queso fresco artesanal. Se colocó en una bolsa estéril de primer uso ziploc; y se cerró inmediatamente la bolsa.
5. Se trituró la muestra de queso fresco artesanal cuidadosamente dentro de la bolsa ziploc con la mano. Se trabajó al lado de un mechero encendido y dentro de la cabina de flujo laminar, con la finalidad de evitar la contaminación.
6. Se midió 90 ml de diluyente estéril 3M™ agua de peptona buferada ISO luego, se vertió el diluyente, previamente enfriado dentro de cada bolsa ziploc conteniendo el queso triturado.



7. Se homogenizó bien la muestra más el diluyente 3M™ agua de peptona buferada ISO.
8. Se midió el pH de la muestra diluida. El rango de pH de las muestras varió entre 6.5 y 7.5 encontrándose dentro de este rango normal.
9. Se colocó 9 ml de agua destilada estéril en 2 tubos de ensayo por cada muestra, para las diluciones correspondientes.
10. A continuación, se realizó las diluciones hasta llegar a la dilución  $10^{-3}$  considerando la primera dilución  $10^{-1}$  a la mezcla de queso y diluyente 3M™ agua de peptona buferada ISO.
11. Se realizó la dilución  $10^{-2}$  para lo cual se agregó 1 ml de la dilución  $10^{-1}$  al tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril, y se mezcló bien con el agitador vortex.
12. Se realizó la dilución  $10^{-3}$ , para lo cual se agregó 1 ml de la dilución  $10^{-2}$  al tubo de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril y se mezcló bien con el agitador vortex. Esta dilución se utilizó para inocular en las placas Petrifilm.
13. Se colocó las 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus* en una superficie plana y nivelada.
14. En forma perpendicular a la placa Petrifilm, se colocó 1 ml de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior, con la pipeta electrónica.
15. Se bajó con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire, sin dejar caer.
16. Con el lado liso hacia abajo, se colocó el dispersor en la película superior sobre el inóculo y se presionó suavemente el dispersor para poder distribuir

el inóculo sobre el área circular, sin girar ni deslizar, se levantó el dispersor.

Se esperó 1 minuto hasta que solidifique el gel.

17. Se preparó la incubadora disponiendo de agua destilada en un vaso precipitado para mantener la humedad. Luego, se llevó todas las placas inoculadas a incubar según AOAC método oficial 2003.08 para productos Lácteos durante  $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$  a  $35 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$  ó  $37 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$ .

18. Pasado las 24 horas, se realizó el recuento de colonias usando el contador de colonias. El recuento de las colonias se realizó en placas que presentaron colonias positivas, es decir, rojo violeta como *Staphylococcus aureus*.

19. Inmediatamente se hizo el frotis de las colonias desarrolladas en las Placas Petrifilm y se observó al microscopio 100 X.

#### **4.4.3 Método para conteo de unidades formadoras de colonia (UFC/ml o UFC/g)**

Para el conteo de colonias se utilizó el contador de colonias de campo oscuro, con luz adecuada, placa de cristal cuadrículada y lente amplificador, el cual está diseñado para el conteo rápido y preciso de las colonias de bacterias en placas de cultivo. Permite el conteo de las colonias por cada pulsación del contador quedando grabado en la pantalla digital el número de colonias presentes en la placa. (Sánchez et al., 2017).

##### **a) Dilución (3M, 2017)**

**Dilución** = Título de la dilución inicial x Título de diluciones sucesivas

##### **b) Factor de dilución (3M, 2017)**

$$FD = \frac{1}{\text{Dilución}}$$

**c) UFC/g ó UFC/ml g (3M, 2017)**

$$UFC/g = \frac{\text{Número de colonias en placas petrifilm X FD}}{\text{Volumen inicial sembrado (1 ml)}}$$

**4.4.4 Métodos para comparar resultados**

- Se comparó los resultados de *E. Coli* y *Staphylococcus aureus* con valores máximos y mínimos según criterios microbiológicos de las NTS N° 071–MINSA/DIGESA-2008. Se evaluó si están dentro o fuera de los límites permisibles para el consumo humano.
- Se evaluó presencia o ausencia de *Salmonella* según las NTS N° 071–MINSA/DIGESA-2008.

## CAPITULO V

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

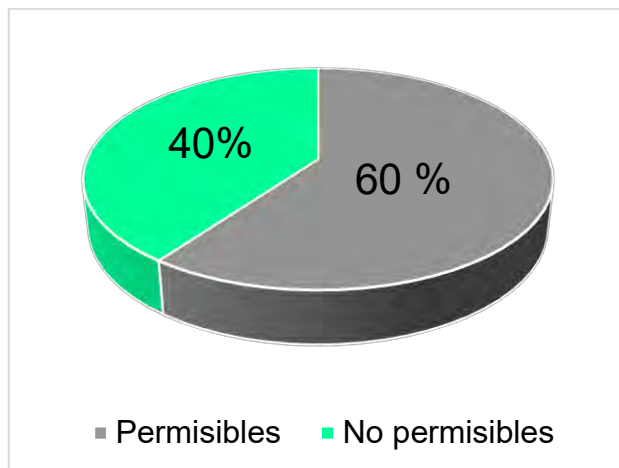
#### 5.1. Recuento de *Escherichia coli*, en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco.

**Tabla 6.** Recuento de *E. Coli* en quesos frescos artesanales del mercado central de San Pedro.

N° de Muestra	Procedencia	N° Colonias	UFC/g	Límite de UFC/g
M 1	Anta	0	0	3 – 10
M 2	Anta	0	0	3 – 10
M 3	Ayaviri	0	0	3 – 10
M 4	Chumbivilcas	0	0	3 – 10
M 5	Anta	0	0	3 – 10
M 6	Anta	0	0	3 – 10
M 7	Anta	0	0	3 – 10
M 8	Anta Ancawasi	0	0	3 – 10
M 9	Anta	1	1 x 10 <sup>4</sup>	3 – 10
M 10	Ocongate	0	0	3 – 10
M 11	Chumbivilcas	0	0	3 – 10
M 12	Anta	27	27 x 10 <sup>4</sup>	3 – 10
M 13	Ocongate	0	0	3 – 10
M 14	Ocongate	12	12 x 10 <sup>4</sup>	3 – 10
M 15	Anta	45	45 x 10 <sup>4</sup>	3 – 10
M 16	Ocongate	6	6 x 10 <sup>4</sup>	3 – 10
M 17	Ocongate	1	1 x 10 <sup>4</sup>	3 – 10
M 18	Ocongate	1	1 x 10 <sup>4</sup>	3 – 10
M 19	Chumbivilcas	0	0	3 – 10
M 20	Anta	3	3 x 10 <sup>4</sup>	3 – 10
<b>Promedio total</b>			<b>4.8 x 10<sup>4</sup></b>	3 – 10

En la tabla 06. Se puede observar los resultados del recuento de *Escherichia coli* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco, cuyo promedio fue de 4.8 x 10<sup>4</sup> UFC/g de *E. coli*, lo cual se encuentra por encima de los límites permisibles de la norma NTS N° 071–MINS/DIGESA-2008.

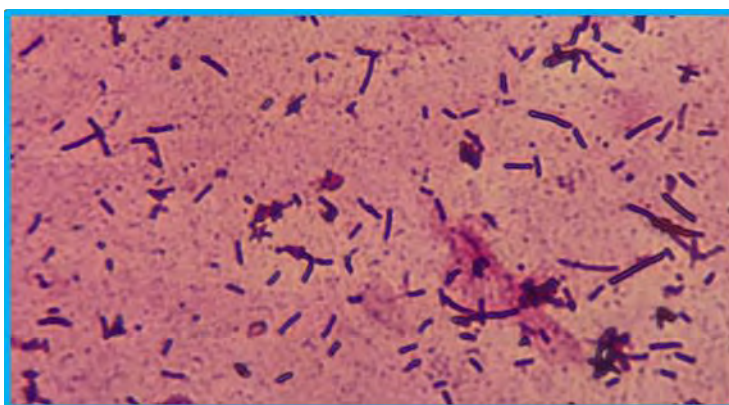
**Figura 4.** *Porcentaje de quesos frescos artesanales permisibles y no permisibles de acuerdo al recuento de E. coli.*



En la figura 4, se muestra que, de las 20 muestras de queso fresco artesanal el 60 % son permisibles y el 40 % son no permisibles, según los límites de la norma técnica sanitaria NTS N° 071 –MINSA/DIGESA-2008.

Se realizó el frotis a partir de las colonias de *E. coli* aisladas el cual se identificó en las muestras de quesos frescos artesanales del mercado central de San Pedro-Cusco y se observó en un microscopio a 100 X (ver figura 3).

**Figura 5.** *Observación microscópica a 100 X de E. coli aislado en muestras de queso fresco artesanal.*



**5.2 Presencia o ausencia de *Salmonella* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco.**

**Tabla 7.** *Resultado para presencia o ausencia de Salmonella en quesos frescos artesanales del mercado San Pedro.*

<b>N° Muestra</b>	<b>Procedencia</b>	<b>Resultado/25g</b>
M 1	Anta	Ausencia
M 2	Anta	Ausencia
M 3	Ayaviri	Ausencia
M 4	Chumbivilcas	Ausencia
M 5	Anta	Ausencia
M 6	Anta	Ausencia
M 7	Anta	Ausencia
M 8	Anta Ancahuasi	Ausencia
M 9	Anta	Ausencia
M 10	Ocongate	Ausencia
M 11	Chumbivilcas	Ausencia
M 12	Anta	Ausencia
M 13	Ocongate	Ausencia
M 14	Ocongate	Ausencia
M 15	Anta	Ausencia
M 16	Ocongate	Ausencia
M 17	Ocongate	Ausencia
M 18	Ocongate	Ausencia
M 19	Chumbivilcas	Ausencia
M 20	Anta	Ausencia
		<b>100 %</b>
		<b>Ausencia</b>

En la tabla 07. Se puede observar los resultados de la determinación de presencia o ausencia de *Salmonella* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco, encontrándose que la *Salmonella* estuvo ausente en el 100 % de las muestras.

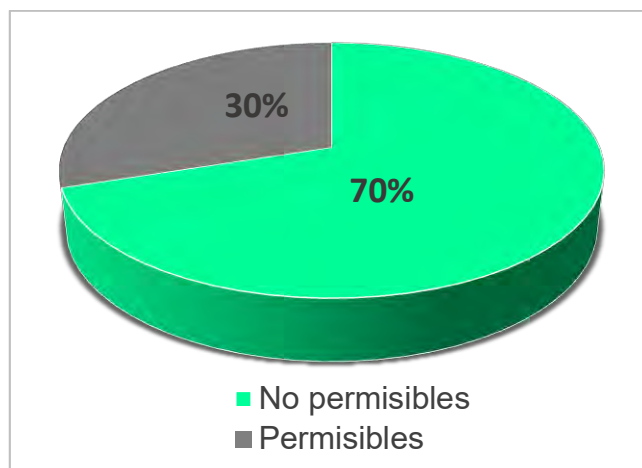
**5.3 Recuento de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco.**

**Tabla 8.** Resultado para *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales del mercado San Pedro.

N° de Muestra	Procedencia	N° Colonias	UFC/g	Limite UFC/g
M 1	Anta	176	176 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 2	Anta	0	0	10 - 10 <sup>2</sup>
M 3	Ayaviri	0	0	10 - 10 <sup>2</sup>
M 4	Chumbivilcas	1	1 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 5	Anta	59	59 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 6	Anta	351	351 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 7	Anta	0	0	10 - 10 <sup>2</sup>
M 8	Anta Ancawasi	147	147 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 9	Anta	11	11 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 10	Ocongate	0	0	10 - 10 <sup>2</sup>
M 11	Chumbivilcas	6	6 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 12	Anta	0	0	10 - 10 <sup>2</sup>
M 13	Ocongate	174	174 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 14	Ocongate	0	0	10 - 10 <sup>2</sup>
M 15	Anta	1	1 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 16	Ocongate	5	5 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 17	Ocongate	2	2 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 18	Ocongate	3	3 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 19	Chumbivilcas	216	216 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
M 20	Anta	66	66 x 10 <sup>3</sup>	10 - 10 <sup>2</sup>
<b>Promedio total</b>			<b>60.9 x 10<sup>3</sup></b>	10 - 10 <sup>2</sup>

En la tabla 8. Se puede observar los resultados del recuento de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro-Cusco, cuyo promedio fue de 60.9 x 10<sup>3</sup> UFC/g de *Staphylococcus aureus*, el mismo que se encuentra por encima de los límites permisibles dada por la norma técnica sanitaria NTS N° 071 –MINS/DIGESA-2008.

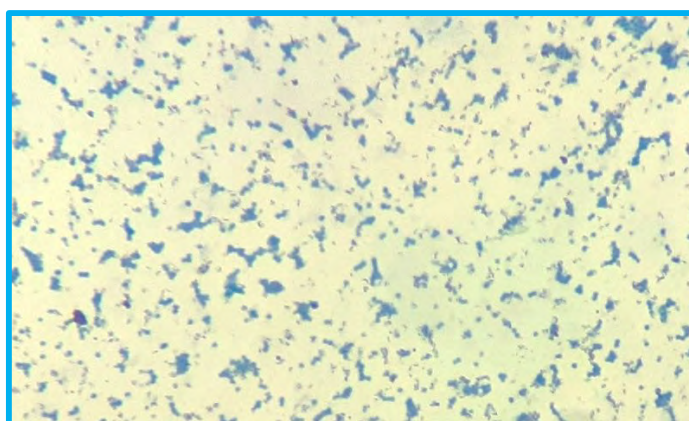
**Figura 6.** *Porcentaje de quesos frescos artesanales permisibles y no permisibles de acuerdo al recuento de Staphylococcus aureus.*



En la figura 6, se muestra que, de las 20 muestras de queso fresco artesanal, el 70 % son no permisible y el 30 % son permisibles, según los límites de la norma NTS N° 071 –MINS/DIGESA-2008.

Se realizó el frotis a partir de las colonias de *Staphylococcus aureus* aisladas en las muestras de quesos frescos artesanales del mercado central de San Pedro-Cusco. Se observó en un microscopio a 100 X (Figura 5).

**Figura 7.** *Observación microscópica a 100 X de Staphylococcus aureus aislado en muestras de queso fresco artesanal.*





**Tabla 9.** Resultado final de calidad microbiológica de las muestras evaluadas.

N° de Muestra	Procedencia	Calidad microbiológica <i>E. coli</i>	Calidad microbiológica <i>Salmonella</i>	Calidad microbiológica <i>Staphylococcus aureus</i>	Aptos y no aptos según estas bacterias
M 1	Anta	Apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 2	Anta	Apto	Apto	Apto	APTO
M 3	Ayaviri	Apto	Apto	Apto	APTO
M 4	Chumbivilcas	Apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 5	Anta	Apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 6	Anta	Apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 7	Anta	Apto	Apto	Apto	APTO
M 8	Anta Ancawasi	Apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 9	Anta	No apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 10	Ocongate	Apto	Apto	Apto	APTO
M 11	Chumbivilcas	Apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 12	Anta	No apto	Apto	Apto	NO APTO
M 13	Ocongate	Apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 14	Ocongate	No apto	Apto	Apto	NO APTO
M 15	Anta	No apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 16	Ocongate	No apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 17	Ocongate	No apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 18	Ocongate	No apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 19	Chumbivilcas	Apto	Apto	No Apto	NO APTO
M 20	Anta	No apto	Apto	No Apto	NO APTO
					<b>80 % NO APTO</b>

En el presente estudio respecto a la calidad microbiológica de *E. coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, en quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central San Pedro-Cusco, se determinó un promedio de  $4.8 \times 10^4$  UFC/g para *E. coli*, 100 % ausencia de *Salmonella* y  $60.9 \times 10^3$  UFC/g para *Staphylococcus aureus*. Esto nos indica que los recuentos de dichos quesos se encuentran por encima de los límites permisibles de la NTS N° 071 –MINSA/DIGESA-2008. El 80% de estos quesos artesanales son NO APTOS para el consumo humano debido a que los recuentos de *E. coli* y *Staphylococcus aureus* se encuentran por encima de los límites. El consumo de estos quesos NO APTOS representa un alto

riesgo para la salud pública ya que estas bacterias causan enfermedades gastrointestinales que pueden perjudicar severamente al consumidor.

#### 5.4 Discusión

A partir de los resultados encontrados podemos indicar que las bacterias *Escherichia coli*, y *Staphylococcus aureus* están presentes en los quesos frescos artesanales que se expenden en el mercado central de San Pedro – Cusco, se determinó un recuento de colonias promedio de  $4.8 \times 10^4$  UFC/g para *E. coli*,  $60.9 \times 10^3$  UFC/g para *Staphylococcus aureus* y ausencia de *Salmonella* en el 100 % de las muestras. Respecto a la calidad microbiológica de estos quesos, los recuentos de colonia de *E. coli* y *Staphylococcus aureus* se encuentran por encima de los límites permisibles de la norma NTS N° 071 –MINS/DIGESA-2008. Por lo tanto, el 80 % de los quesos frescos artesanales son NO APTOS para el consumo humano.

El Resultado obtenido coincide con el autor Bullon & Silva (2021) quienes reportan la presencia de *E. coli* y *Salmonella spp* en quesos frescos artesanales; también se obtuvo la presencia *E. coli* en quesos frescos artesanales en la presente investigación, pero se rechaza la presencia de *Salmonella* en la presente investigación.

De igual manera, Merchán et al. (2019) Indican que los microorganismos comúnmente reportados como causantes de las enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas entre los años 2007 a 2016 son el *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* con prevalencias de 43,71 % y 18,51 % respectivamente, en la presente investigación también se reporta la prevalencia de en un 80 % de *E.coli* y *Staphylococcus aureus* los cuales son indicadores de incorrecta manipulación y de deficiente calidad sanitaria, respectivamente.

El resultado de esta investigación también guardan relación con los resultados de Ccaso & Huallpa (2020) quienes evaluaron quesos frescos de los mercados de la ciudad de Juliaca-2020, obtuvieron recuentos promedios que excedieron el límite establecido por las NTP, y reportaron que el 96 % presentaron *Staphylococcus aureus*, 92 % *Escherichia coli*, en la presente investigación también presentaron un 80 % de *E.coli* y *Staphylococcus aureus*.

El resultado obtenido en esta investigación difiere con lo reportado por Carhuas et al. (2020) en quesos frescos artesanales expendidos en mercados de Ica, quien indica que en cuanto a la calidad microbiológicas de *E. coli* y *Salmonella* cumplen con lo especificado en la Norma Técnica Peruana. Sin embargo, en la presente investigación la calidad microbiológica para *E. coli* no cumplen con la Norma técnica Sanitaria peruana, en lo que se refiere a *Salmonella*, sus resultados coinciden con este estudio, ya que si cumple con lo especificado por la Norma técnica Sanitaria peruana.

Holguín (2019) analizó quesos frescos artesanal comercializado en mercados del distrito de Trujillo - La Libertad, reportando que el recuento promedio para *E. coli* fue de  $3.15 \times 10^2$  UFC/g, y el recuento para *Staphylococcus aureus* fue  $8.02 \times 10^2$  UFC/g valores que superaron los límites permisibles, demostrando que el 100 % de las muestras analizadas superan los límites permisibles de la Norma Técnica Sanitaria N°071. Estos resultados concuerdan con el presente estudio, ya que en la presente investigación también se reporta un recuento de colonias promedio de  $4.8 \times 10^4$  UFC/g para *E. coli* y  $60.9 \times 10^3$  UFC/g para *Staphylococcus aureus* demostrando que el 80 % de las muestras analizadas superan los límites permisibles de la Norma Técnica Sanitaria N°071.

Por otro lado, Vásquez et al. (2018) analizó quesos frescos en Cajamarca reportando muestras positivas para *Escherichia coli* en un 33.3 %, recuento de *Staphylococcus aureus* de  $4.02 \times 10^3$  UFC/g y ausencia de *Salmonella spp.* Dichos resultados son similares al resultado obtenido en esta investigación reportando un recuento de colonias promedio de  $4.8 \times 10^4$  UFC/g para *E. coli*,  $60.9 \times 10^3$  UFC/g para *Staphylococcus aureus* y ausencia de *Salmonella*.

El resultado obtenido demuestra que no se aplica de forma adecuada las buenas prácticas de manufactura. Ya sea, en la extracción de la materia prima, durante el proceso de elaboración, almacenamiento, transporte y expendio de este derivado lácteo. Estos derivados lácteos son un medio de cultivo, para muchos patógenos como *E. coli* y *Staphylococcus aureus*, por lo tanto, son más propensos a sufrir cualquier tipo de deterioro causado por bacterias, los mismos que repercuten directamente en el consumidor final, ya que podría ocasionar síntomas de orden gastrointestinal por las toxinas que estas bacterias generan en el alimento.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 6.1. Conclusiones

- El recuento promedio de *Escherichia coli* en muestras de queso fresco artesanal fue  $4.8 \times 10^4$  UFC/g.
- No se encontró presencia de *Salmonella* en el 100 % de las muestras de quesos frescos artesanales.
- El recuento promedio de *Staphylococcus aureus* en muestras de quesos frescos artesanales, fue  $60.9 \times 10^3$  UFC/g.

El 80 % de las muestras de queso fresco artesanal son NO APTOS para el consumo humano debido a que presentaron recuentos de colonias de *E. coli* y *Staphylococcus aureus* superiores a los límites permisibles según NTS N° 071.

#### 6.2. Recomendaciones

- Realizar evaluaciones de calidad microbiológica de los quesos frescos artesanales y no artesanales de los diferentes mercados de la región Cusco, cuyos resultados sean de conocimiento de nuestras autoridades, con la finalidad de que puedan implementar medidas de bioseguridad en el procesamiento, transporte y comercialización de estos productos lácteos.
- Realizar estudios relacionados a la identificación de puntos críticos de control y la aplicación de buenas prácticas de manufactura (BPM) en el sector productivo de lácteos.
- Las entidades gubernamentales y no gubernamentales relacionados a esta cadena productiva, deberán fortalecer las capacidades de los involucrados en la producción de estos derivados lácteos como el queso artesanal, con la

finalidad de mejorar los procesos, mediante capacitaciones, entrega de manuales de buenas prácticas de manufactura, implementación de proyectos productivos. De tal manera se pueda prevenir la contaminación de este producto con patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, y reducir las enfermedades transmitidas por alimentos en los humanos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 3M. (2017). *3M Placas petrifilm Staph express para recuento de Staphylococcus aureus*. 6. <https://multimedia.3m.com/mws/media/1409682O/guia-interpretacion-petrifilm-staph-express.pdf>
- 3M Company. (2014). *3M Ciencia Aplicada a la vida. Placa 3M Petrifilm Salmonella Express*.
- 3M, S. A. to L. (2013). *3M™ Suplemento para el Enriquecimiento de Salmonella Medios de cultivo para análisis microbiológico*. (pp. 1–3).
- Al-kassab, A., Mendez, C., & Robles, P. (2020). Factores sociodemográficos y nutricionales asociados a anemia en niños de 1 a 5 años en Perú. *Revista chilena de nutrición*, 47(6), 925–932. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182020000600925>
- Aleu, G., Rosmini, M., Sequeira, G., Zogbi, A., Vico, J., & Sánchez, I. (2018). *Guía Para El Aseguramiento De La Calidad En Industrias De Alimentos De Origen Animal* (1ª ed.). [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/carne\\_y\\_subproductos/209-GUIA.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/209-GUIA.pdf)
- Alfaro, R. (2018). Aspectos relevantes sobre Salmonella sp en humanos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, , 1–13. <http://scielo.sld.cu/pdf/mgi/v34n3/mgi12318.pdf>
- ANMAT, RENALOA, & Ministerio de Salud. (2011). Análisis microbiológico de los alimentos. En *ANMAT, RENALOA, Ministerio de salud* (Vol. 1, pp. 1–175).
- Arenas, H. (2019). *Evaluación técnico económico del proceso de producción de queso en el centro poblado de Huamanruro- Macarí melgar - Puno* [Universidad

Nacional de San Antonio Abad del Cusco].  
repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/4225

Ares, J. (2002). *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*. 15, 133.

Boyce, T. G. (2019). *Intoxicación alimentaria por estafilococos - Trastornos gastrointestinales - Manual MSD versión para público general*. University of North Carolina School of Medicine. <https://www.msmanuals.com/es/hogar/trastornos-gastrointestinales/gastroenteritis/intoxicación-alimentaria-por-estafilococos>

Britania, L. (2021a). *Baird Parker Agar Base* (p. 2). Laboratorio britania S.A.

Britania, L. (2021b). *Rappaport Vassiliadis Caldo* (p. 2).

Bullon, S. S., & Silva, R. (2021). *Microbiological quality and prevalence of pathogens that cause foodborne diseases ( ATS ) in pasteurized and unpasteurized artisanal fresh cheese : Systematic Review*. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas.

Carhuas, E., Flores, N., & Gálvez, N. (2020). *Evaluación sensorial, fisicoquímica, microbiológica y condiciones de almacenamiento de quesos frescos artesanales expendidos en el mercado Ica*. Universidad Nacional San Luis Gozaga.

Castro, C. (2007). *Coliformes Totales* [Escuela Superior Politécnica-Instituto de ciencias Matemáticas Ingeniería en auditoría y Control de Gestión]. <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6154/9/c1.pdf>

Ccaso, Y., & Huallpa, F. (2020). *Análisis microbiológico en relación a las condiciones higiénicas sanitarias de expendio de quesos frescos comercializados en los mercados de la ciudad de Juliaca, 2020*.

Franklin, B., Colonia, E., Delegación Hidalgo, M., & Mexico, D. F. (2011). *El libro*



*blanco de la leche y los productos lácteos* (Vol. 1). Cámara Nacional de Industriales de la Leche.

Google Earth Pro. (2021). *Ubicación geográfica del Mercado central de San Pedro Cusco en Google Earth Pro* (p. 1). Google Earth Pro.

Gottau, G. (2018, enero 11). *Análisis nutricional de diferentes tipos de quesos*. Vitónica. <https://www.vitonica.com/alimentos/analisis-nutricional-de-diferentes-tipos-de-quesos>

Holguín, J. (2019). *Calidad bacteriológica de queso fresco artesanal comercializado en mercados del distrito de Trujillo - La Libertad, Perú - 2019*. Universidad Nacional de Trujillo.

Jose, C. (2014). *Identificación de serotipos de salmonella a partir de quesos fresco expendido en la zona conurbada Veracruz-Boca del Río*. UNIVERSIDAD VERACRUZANA.

Juárez, M., Moscoso, B., Hernández, J., Mérida, M., Samayoa, L., Juárez, G., & Gamboa, K. (2011). Procesos para la elaboración de productos lácteos. *FAO, MAGA*, 3, 3–38. <http://www.fao.org.gt>

Kopper, G., Calderón, G., Schneider, S., Domínguez, W., Gutiérrez, G., & Consultres, F. (2009). Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. En *Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación*. <https://www.fao.org/3/i0480s/i0480s.pdf>

Kurlat, J. (2011). Queso artesanal y ricotta. En *Instituto Nacional de Tecnología Industrial - INTI*,.

- Larrea, J., Rojas, M., Romeu, B., Rojas, N., & Heydrich, M. (2013). Revista CENIC. Ciencias biológicas. *Ciencias Biológicas*, 44(Contaminación fecal), 24–34.
- Lobos, I., Martínez, J., Pizarro, N., Barrera, O., Dolarea, J., & Silva, M. (2021). Manual de Quesos para pequeñas queserías de la Región de Los Ríos. En M. Pino, C. Vergara, I. Subiabre, S. Elgueta, R. Morales, & F. Salazar (Eds.), *Instituto de investigaciones Agropecuarias* (437ª ed.). INIA, Instituto de investigaciones Agropecuarias.
- Lobos, I., & Pavez, P. (2021). *Manual de Quesos para pequeñas queserías de la región de Los Ríos*. <https://biblioteca.inia.cl/handle/123456789/67574>
- Mandal, A. (2019, junio 5). *¿Qué es Staphylococcus Aureus?* <https://www.news-medical.net/health/What-is-Staphylococcus-Aureus.aspx>
- Mayo Clinic. (2021). *Infeción por salmonela*. <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/salmonella/symptoms-causes/syc-20355329>
- Mead, P. S., & Griffin, P. M. (1998). Escherichia coli O157:H7. *The Lancet*, 352(9135), 1207–1212. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)01267-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)01267-7)
- Merchán, N., Pineda, L. M., Cárdenas, A. K., González, N. C., Otálora, M. C., & Sánchez, Y. (2019). Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016 | Merchán Castellanos | Revista Cubana de Higiene y Epidemiología. *Revista cubana de higiene y epidemiología*, 56, 1.6. <http://www.revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/171/260>
- Ministerio de Salud. (2008). Norma Sanitaria que Establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas

de Consumo Humano. Resolución Ministerial N° 591 - 2008 / MINSA. En *El Peruano* (p. 26).

[http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v6n3/a03v6n3.pdf?fbclid=IwAR3kTvpY4bLfgT2WFck-ZCnypk010XTGkoUht9drrixEMH8c5K91vdfL\\_I](http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v6n3/a03v6n3.pdf?fbclid=IwAR3kTvpY4bLfgT2WFck-ZCnypk010XTGkoUht9drrixEMH8c5K91vdfL_I)

MINSA, 2019. (2019). *BOLETÍN EPIDEMIOLOGICO DEL PERÚ* (Electronica; pp. 1–27). Los procesos de la vigilancia epidemiológica en el Perú: ¿Qué debemos mejorar para generar información útil y confiable? .  
<https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2019/15.pdf>

OPS, O. M. L. S., & OMS, O. M. D. L. S. (2003). *Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)*. Oficina Regional para las Américas de la Organización Mundial de la Salud.  
[https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es](https://www3.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836:2015-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-eta&Itemid=41432&lang=es)

Parra. (2020). *Determinación de Coliformes Totales y Escherichia coli* - YouTube.  
[https://www.youtube.com/watch?v=o\\_jCsU4z2Ps&t=105s](https://www.youtube.com/watch?v=o_jCsU4z2Ps&t=105s)

Parra, M., Durango, J., & Máttar, S. (2002). Microbiología, Patogénesis, Epidemiología, Clínica y Diagnóstico de las Infecciones Producidas por Salmonella. *Revista MVZ Córdoba*, 7.

Placas Petrifilm. (2006). *Placas Petrifilm™ para el Recuento de E. coli/Coliformes*. 1–6.

PRODAR, FAO, & IICA. (2014). *Procesados de lácteos* (pp. 1–27).  
[https://www.fao.org/in-action/inpho/publicaciones/es/?page=2&ipp=5&tx\\_dynalist\\_pi1%5Bpar%5D=YToxOntzOjE6lkwiO3M6MToiNSI7fQ%3D%3D](https://www.fao.org/in-action/inpho/publicaciones/es/?page=2&ipp=5&tx_dynalist_pi1%5Bpar%5D=YToxOntzOjE6lkwiO3M6MToiNSI7fQ%3D%3D)

RAE, 2020. (2018). Queso. <https://dle.rae.es/queso>

Revilla, A. (1982). *tecnología de la leche procesamiento, manufactura y analisis* (L. S.A, P. Eppelin, T. Saravi, & J. Escoto (eds.); 2ª ed.). Instituto interamericano de cooperacion para la agricultura San Jose, Costa Rica.

Sanz, M. (2021, junio 3). *¿ Todos los microorganismos que se encuentran en el queso son beneficiosos?* Departamento Técnico e investigación de Betelgeux. <https://www.betelgeux.es/blog/2021/06/04/todos-los-microorganismos-que-se-encuentran-en-el-queso-son-beneficiosos/>

Vargas, E. (2019). *Condiciones higiénico sanitarias en la manipulación de alimentos por los expendedores del mercado central de San Pedro, Cusco - 2019* [Universidad Andina del Cusco]. <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/2216%0Ahttp://www.scielo.br/pdf/ean/v13n2/v13n2a08.pdf>. 2009 abr-jun; 13(2).

Vásquez, V., Salhuana, J., Jimenez, L., & Abanto, L. (2018). Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. *Ecología Aplicada*, 17, 7. <https://doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172>

Vidal, E., Gonzales, L., & Alanya, D. (2020). *Producción de queso tipo andino* (F. Asociacion SUCO, Asociacion ALLPA, Instituto de desarrollo y medio ambiente - IDMA (ed.); Depósito L).

Zendejas, Avalos, & Soto. (2014). *Microbiología general de Staphylococcus aureus : Generalidades , patogenicidad y métodos de identificación*. 25(3), 129–143.

# ANEXOS

**Anexo 1. Método de Toma de muestras de quesos frescos artesanales en el mercado central de San Pedro.**



**Figura 8.** *Compra de quesos frescos artesanales en bolsas de primer uso tipo ziploc del mercado central de San Pedro. Previamente rotulados*

**Anexo 2. Método de esterilización de materiales de laboratorio.**



**Figura 9.** *Esterilización de materiales en autoclave durante 15 min.*

**Anexo 3. Metodología de laboratorio para procesamiento de muestras para  
E.coli y Staphylococcus aureus**



**Figura 10.** Preparación de diluyente utilizando 51 g. de 3M™ Agua de peptona Buferada ISO deshidratado.



**Figura 11.** Preparación de diluyente utilizando 51 g de 3M™ Agua de peptona Buferada ISO deshidratado a 2000 ml de agua destilada.

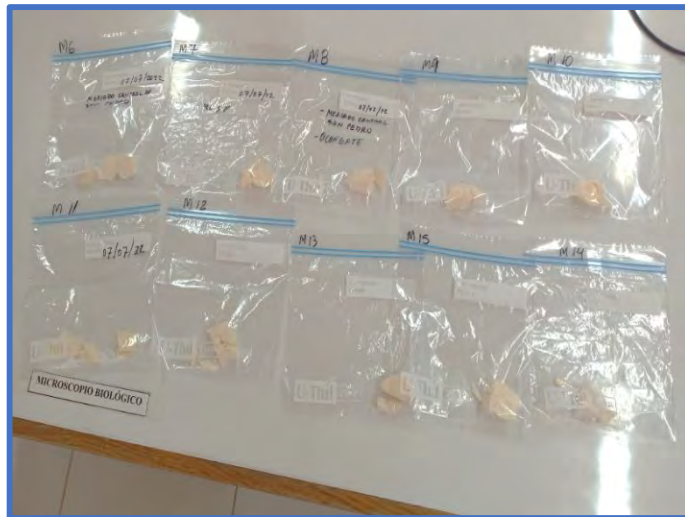


**Figura 12.** Esterilización del diluyente 3M™ Agua de peptona Buferada ISO



**Figura 13.** *Pesado de 10 g de queso fresco artesanal de cada muestra con la ayuda del tenedor y cuchillo de plástico esterilizado en la cabina de flujo laminar, colocación en una bolsa estéril de primer uso ziploc previamente rotulada y cierre inmediato.*





**Figura 14.** *Muestras de 10 gramos de queso fresco artesanal dentro de su respectiva bolsa ziploc-*



**Figura 15.** *Quesos frescos artesanales triturados*



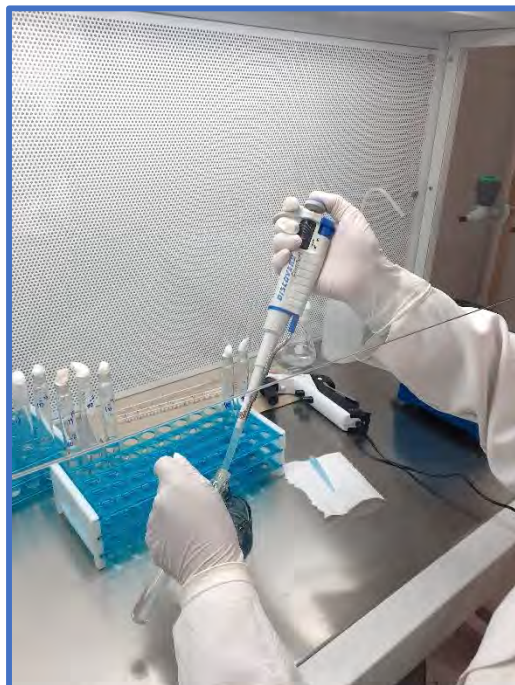
**Figura 16.** Preparación de dilución utilizando 90 ml de diluyente 3M™ Agua de peptona Buferada ISO en cada bolsa ziploc con 10 g de queso triturado.



**Figura 17.** Homogenización de la muestra más el diluyente 3M™ Agua de peptona Buferada ISO.



**Figura 18.** *Medimos el pH de la muestra diluida donde el rango se encontró entre 6.5 y 7.5.*



**Figura 19.** *Preparación de las diluciones para *E. coli*  $10^{-4}$  y para *Staphylococcus aureus*  $10^{-3}$*



**Figura 20.** *Agitación de las diluciones con la ayuda del agitador vortex*



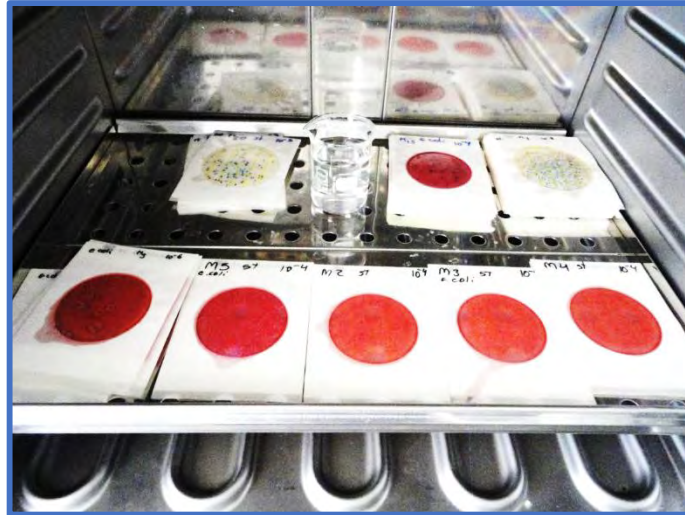
**Figura 21.** *Siembra en 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de Staphylococcus aureus.*



**Figura 22.** *Siembra en Placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/Coliformes*

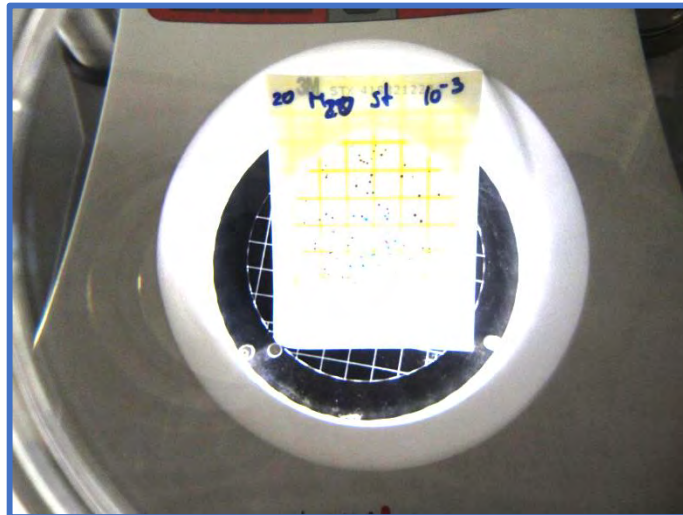


**Figura 23.** *Preparación de la incubadora disponiendo de agua destilada en un vaso precipitado para mantener la humedad.*



**Figura 24.** Incubación de las muestras inoculada para *E. coli* a una temperatura de 35°C por 48 horas y para *Staphylococcus aureus* a 35°C por 24 horas.

**Anexo 4. Método para conteo de unidades formadores de colonia (UFC/g)**

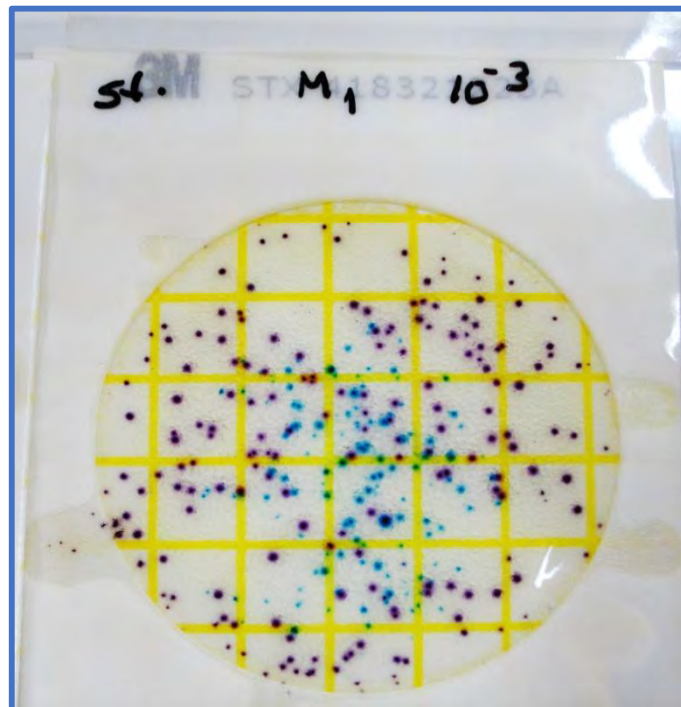


**Figura 25.** Recuento de colonias de *Staphylococcus aureus* en las 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express utilizando el Contador de colonia (Shuett biotec)



**Figura 26.** Recuento de colonias de *E. coli*/Coliformes en las Placas Petrifilm™ para recuento de *E. coli*/Coliformes utilizando el contador de colonia (Shuett biotec).

**Anexo 5. Resultados para Staphylococcus aureus y E.coli**



**Figura 27.** Las colonias de *Staphylococcus aureus* se observaron rojo violeta en las 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus*.



**Figura 28.** Las colonias de *E. coli*/Coliformes se observaron de color azul en las Placas Petrifilm™ para recuento de *E. coli*/Coliformes.

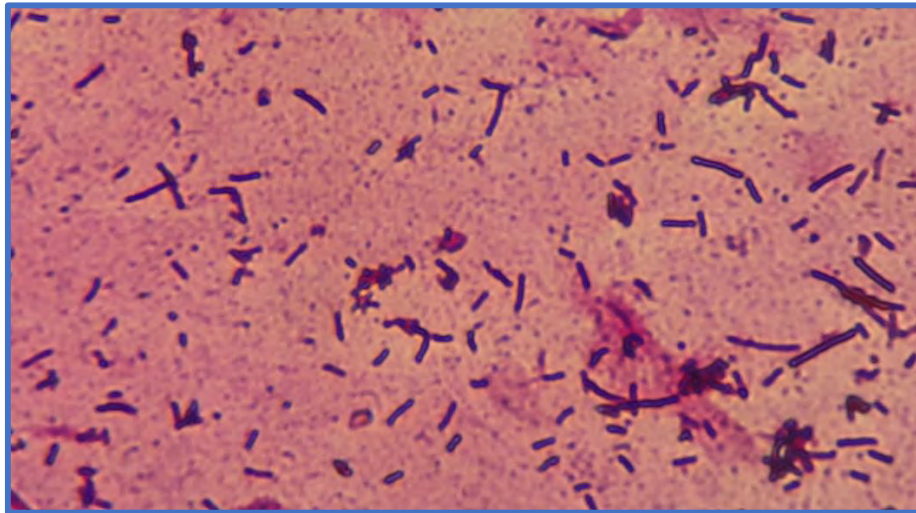


**Figura 29.** Frotis de las colonias desarrolladas en las placas petrifilm.

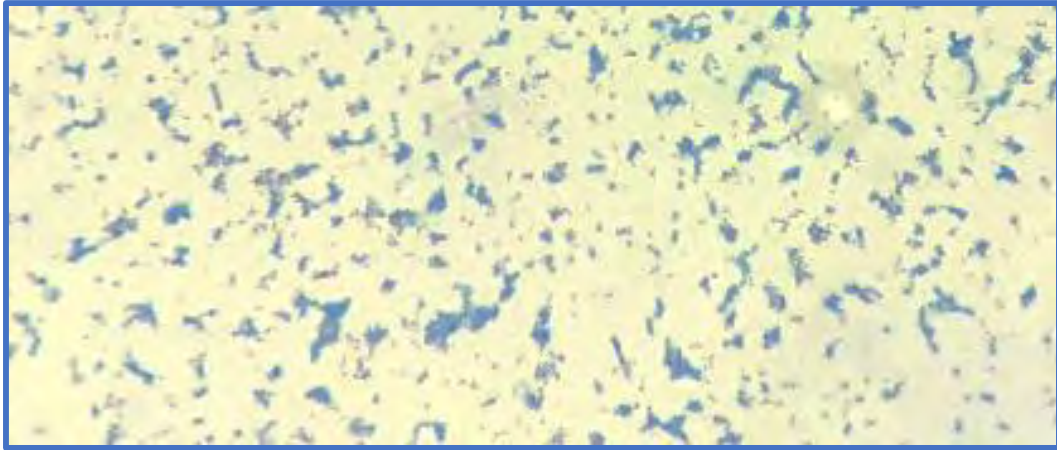




**Figura 30.** *Observación de frotis en microscopio con el objetivo de inmersión 100 X.*



**Figura 31.** *Observación microscópica a 100 X de E. coli aislado en muestras de queso fresco artesanal.*



**Figura 32.** *Observación microscópica a 100 X de Staphylococcus aureus aislado en muestras de queso fresco artesanal.*

**Anexo 6. Metodología para determinar la presencia o ausencia de Salmonella en quesos frescos artesanales utilizando placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX)**



**Figura 33.** *Pesaje de 185 g de 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella deshidratado*



**Figura 34.** *Pesaje de 0.25 g de 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para Salmonella.*



**Figura 35.** *Preparación de diluyente utilizando 185 g de diluyente deshidratado 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella en 5000 ml de agua destilada para las 20 muestras.*



**Figura 36.** *Homogenización del diluyente 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella utilizando el agitador vortex.*



**Figura 37.** Esterilización del diluyente 3M™ Enriquecimiento base para *Salmonella* en autoclave a una temperatura de 121°C por 15 minutos.



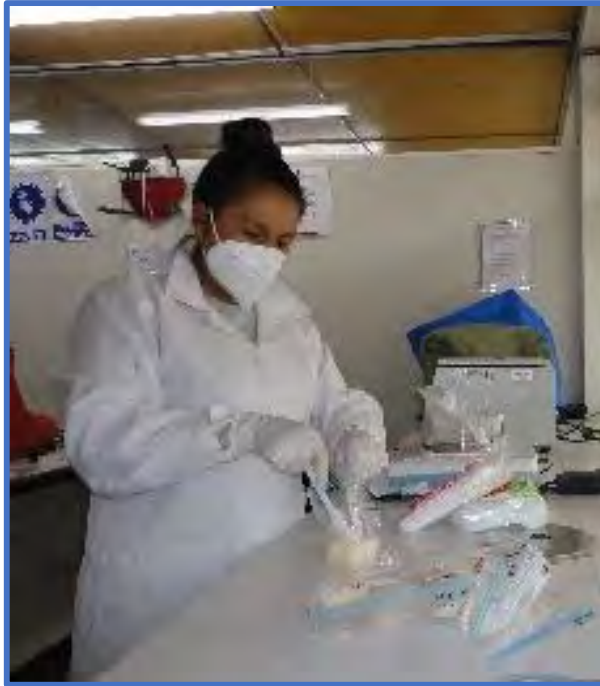
**Figura 38.** Medición del pH de  $7.0 \pm 0.2$



**Figura 39.** *Preparación de suplemento utilizando 0.25 g de 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para Salmonella en 5000 ml del caldo 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella para las 20 muestras.*



**Figura 40.** *Homogenización del medio de cultivo para Salmonella*



**Figura 41.** *Pesado de 25 g de queso fresco de cada muestra y almacenamiento inmediato en una bolsa ziploc de primer uso previamente rotulado.*



**Figura 42.** *Trituración de muestras de 25 g de queso fresco con la mano.*



**Figura 43.** *Adición de 225 ml del medio a cada bolsa ziploc de queso triturado.*

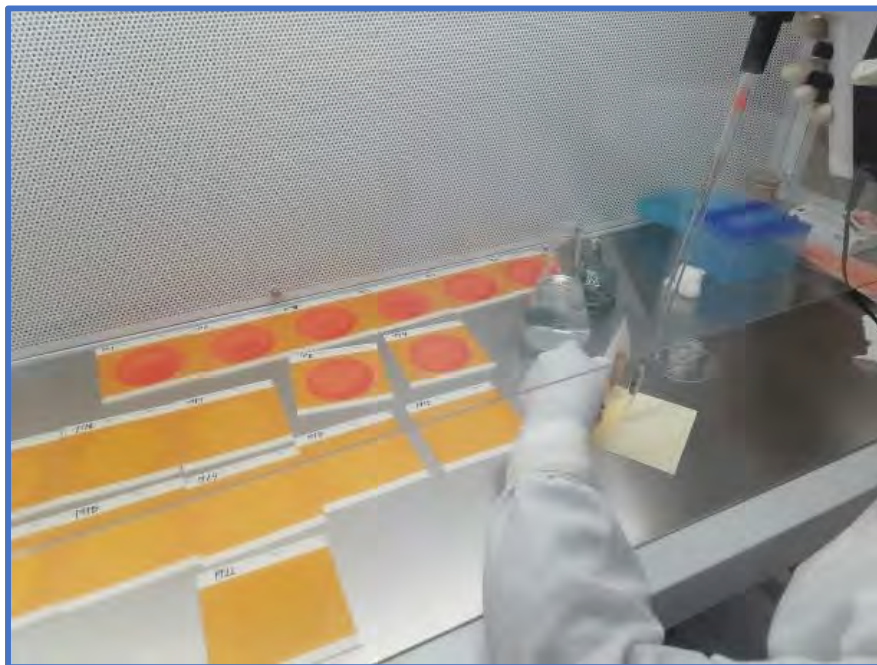


**Figura 44.** *Homogenización de cada muestra de queso con el medio de cultivo.*

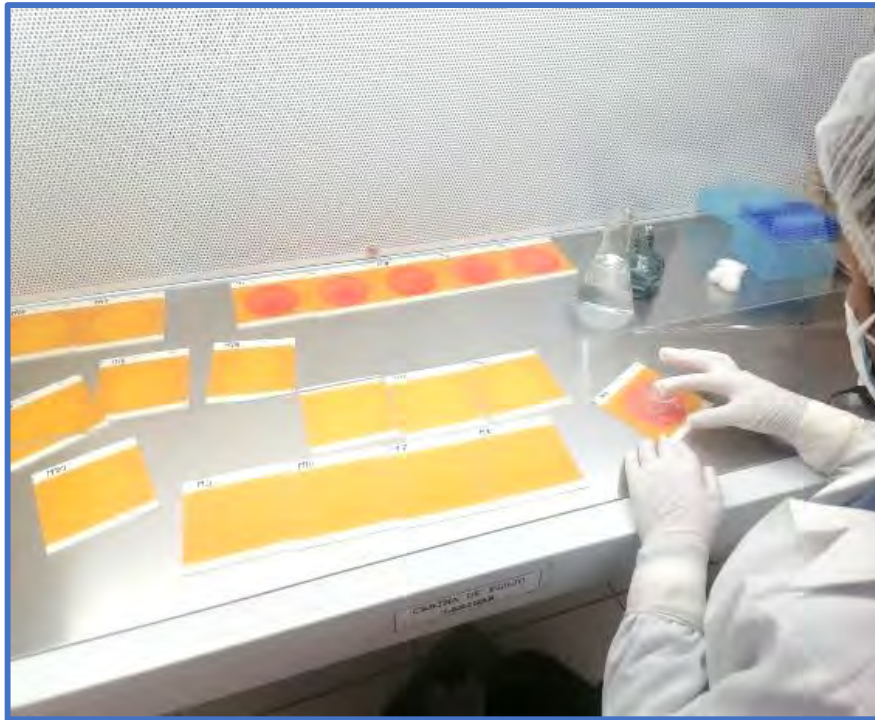




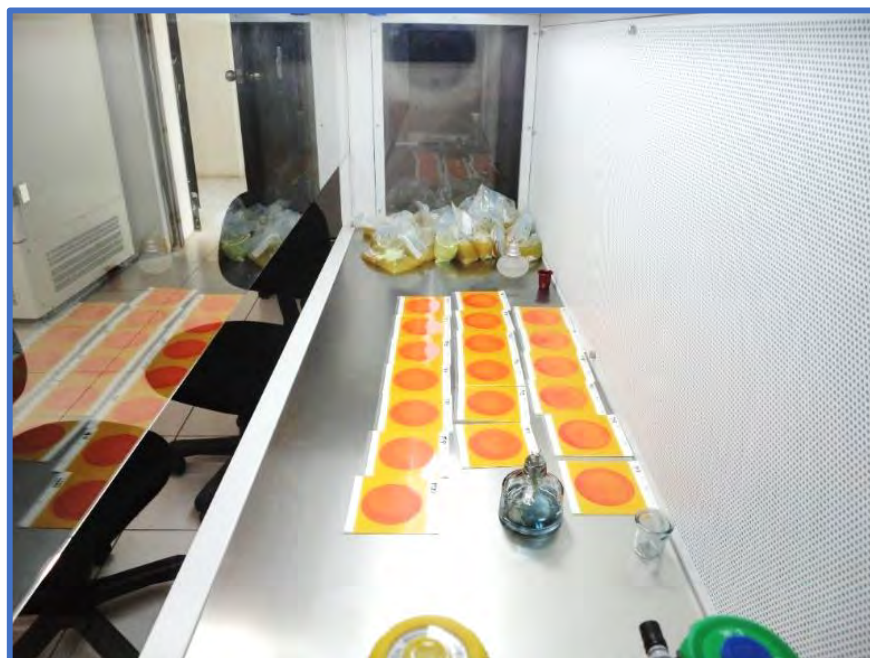
**Figura 45.** *Incubación del medio de cultivo más el queso triturado por 24 h a una temperatura de 41.5°C.*



**Figura 46.** *Hidratación de las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) con 2 ml de agua destilada en forma perpendicular.*



**Figura 47.** *Diseminación del agua destilada en las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) utilizando el dispensador 3M.*



**Figura 48.** *Colocación de las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) en una superficie plana y nivelada durante 1 hora a temperatura ambiente (20 – 25°C) protegida de la luz para que se forme el gel.*



**Figura 49.** *Siembra de las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) por estriado, desde la parte superior hasta la parte inferior con un asa de 3 mm de diámetro.*



**Figura 50.** *Incubación de todas las Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) sembradas en posición horizontal con el lado coloreado hacia arriba a una temperatura de 41.5°C durante 24 horas.*

**Anexo 7. Método para conteo de unidades formadoras de colonia (UFC/g)**



**Figura 51.** Interpretación de Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) en el contador de colonia (Shuett biotec)



**Figura 52.** Observación de placa 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) inoculado en el contador de colonia (Shuett biotec)

### Anexo 8. Placas petrifilm inoculadas

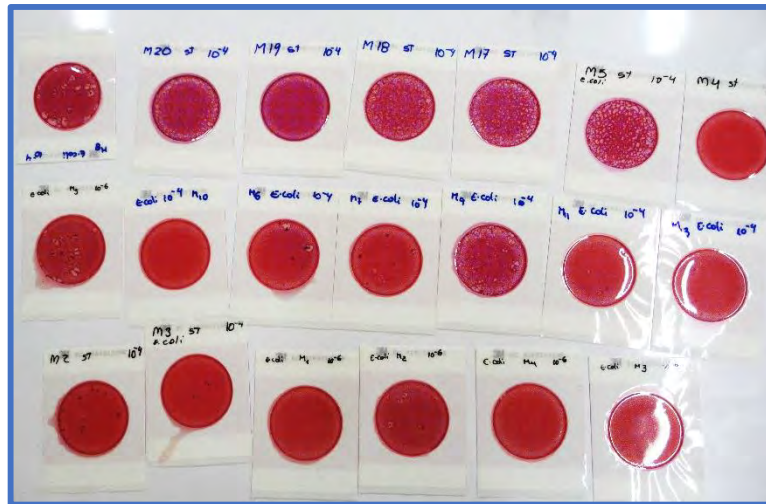
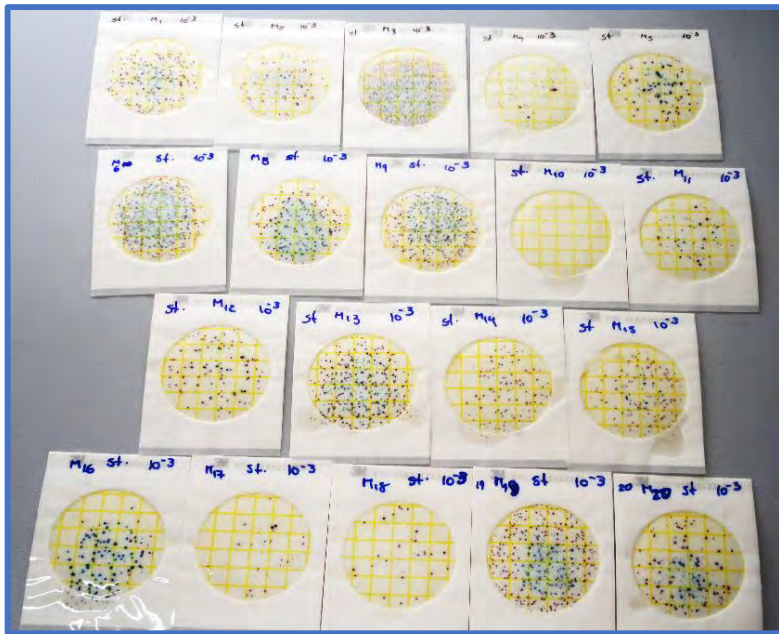


Figura 53. Placas Petrifilm™ para recuento de *E. coli*/Coliformes incubadas.



Figura 54. Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX) incubadas.



**Figura 55.** 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus* incubadas.



**Figura 56.** Placas Petrifilm™ Placas Petrifilm™ para recuento de *E. coli*/Coliformes, Staph Express para recuento de *Staphylococcus aureus* 3M™ y Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX).

## Anexo 9. Norma técnica sanitaria NTS N° 071 –Minsa/DIGESA-2008.

NTS N° 071 - Minsa/DIGESA-V.01  
 NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD  
 PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

I.8 Quesos no madurados (queso fresco, mantecoso, ricotta, cabaña, crema, petit suisse, mozzarella, ucalino, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	$5 \times 10^2$	$10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10	$10^2$
<i>Escherichia coli</i>	6	3	5	1	3	10
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	--
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
I.9 Quesos madurados (camembert, brie, roquefort, gorgonzola, cuartirolo, cajamarca, tilsit, andino, majes, characato, sabandía, dambo, gouda, edam, paria, emmental, gruyere, cheddar, provolone, amazónico, parmesano, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	$2 \times 10^2$	$10^3$
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	$10^2$
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	--
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
I.10 Quesos procesados (fundidos: laminados, rallados, en pasta, en polvo).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	6	3	5	1	10	$10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	$10^2$
II. HELADOS Y MEZCLAS PARA HELADOS.						
II.1 Helados a base de leche.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	$10^4$	$10^6$
Coliformes	5	3	5	2	10	$10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	$10^2$
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	< 100	---
II.2 Postres a base de helados de leche con cobertura de maní, mermelada, frutas confitadas u otros.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	$10^4$	$10^5$
Coliformes	5	3	5	2	$10^2$	$2 \times 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	$10^2$
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
II.3 Helados a base de agua.						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Coliformes	5	3	5	2	10	$10^2$
<i>Salmonella sp. (*)</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---
(*) Sólo para los que contienen pulpa de fruta.						
II.4 Mezclas deshidratadas para helados.						



HERNANDEZ C



C. Reyes J.

Anexo 10. Análisis de resultados microbiológicos de E.coli, Salmonella y Staphylococcus aureus emitida por el laboratorio de sanidad animal - K'ayra – UNSAAC



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
 FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA  
 LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL "M.V. ATILIO PACHECO"  
 "Año de la unidad, la paz y el desarrollo"



**INFORME DE ANÁLISIS**

**Tesista:** Fanny Ccahuana Condori

**Procedencia de las muestras:** Mercado Central de San Pedro-Cusco

**Tipo de muestra:** Queso fresco artesanal

**Tipo de análisis:** Recuento microbiano de *E. coli*

**Fecha de análisis:** 06 de julio del 2022

**Resultados del análisis microbiológico**

N° de Muestra	Procedencia	UFC/g	Limite por g	N° de Muestra	Procedencia	UFC/g	Limite/g
M 1	Anta	0	3 - 10	M 11	Chumbivillas	0	3 - 10
M 2	Anta	0	3 - 10	M 12	Anta	27 x 10 <sup>4</sup>	3 - 10
M 3	Ayaviri	0	3 - 10	M 13	Ocongate	0	3 - 10
M 4	Chumbivillas	0	3 - 10	M 14	Ocongate	12 x 10 <sup>4</sup>	3 - 10
M 5	Anta	0	3 - 10	M 15	Anta	45 x 10 <sup>4</sup>	3 - 10
M 6	Anta	0	3 - 10	M 16	Ocongate	6 x 10 <sup>4</sup>	3 - 10
M 7	Anta	0	3 - 10	M 17	Ocongate	1 x 10 <sup>4</sup>	3 - 10
M 8	Anta Ancawasi	0	3 - 10	M 18	Ocongate	1 x 10 <sup>4</sup>	3 - 10
M 9	Anta	1 x 10 <sup>4</sup>	3 - 10	M 19	Chumbivillas	0	3 - 10
M 10	Ocongate	0	3 - 10	M 20	Anta	3 x 10 <sup>4</sup>	3 - 10

**Atentamente,**

UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
 F.A.Z.  
 Dr. Edgar A. Valdez Gutierrez  
 DOCENTE

Dr. M.V.Z. Edgar A. Valdez Gutiérrez

Responsable de laboratorio





UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL  
CUSCO

FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA  
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL "M.V. ATILIO PACHECO"  
"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"



### INFORME DE ANÁLISIS

**Tesista:** Fanny Ccahuana Condori

**Procedencia de las muestras:** Mercado Central de San Pedro-Cusco

**Tipo de muestra:** Queso fresco artesanal

**Tipo de análisis:** Recuento microbiano de *Salmonella*

**Fecha de análisis:** 06 de julio del 2022

#### Resultados del análisis microbiológico

Resultado para <i>Salmonella</i>							
N° Muestra	Procedencia	UFC/25 g	Limite/25 g	N° Muestra	Procedencia	UFC/25 g	Limite/25 g
M 1	Anta	Ausencia	Ausencia	M 11	Chumbivilcas	Ausencia	Ausencia
M 2	Anta	Ausencia	Ausencia	M 12	Anta	Ausencia	Ausencia
M 3	Ayaviri	Ausencia	Ausencia	M 13	Ocongate	Ausencia	Ausencia
M 4	Chumbivilcas	Ausencia	Ausencia	M 14	Ocongate	Ausencia	Ausencia
M 5	Anta	Ausencia	Ausencia	M 15	Anta	Ausencia	Ausencia
M 6	Anta	Ausencia	Ausencia	M 16	Ocongate	Ausencia	Ausencia
M 7	Anta	Ausencia	Ausencia	M 17	Ocongate	Ausencia	Ausencia
M 8	Anta Ancawasi	Ausencia	Ausencia	M 18	Ocongate	Ausencia	Ausencia
M 9	Anta	Ausencia	Ausencia	M 19	Chumbivilcas	Ausencia	Ausencia
M 10	Ocongate	Ausencia	Ausencia	M 20	Anta	Ausencia	Ausencia

Atentamente,

  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA  
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL "M.V. ATILIO PACHECO"  
**Dr. Edgar A. Valdez Gutierrez**  
DOCENTE

Dr. M.V.Z. Edgar A. Valdez Gutiérrez

Responsable de laboratorio



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL  
CUSCO

FACULTAD DE AGRONOMIA Y ZOOTECNIA  
LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL "M.V. ATILIO PACHECO"  
"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"



### INFORME DE ANÁLISIS

**Tesista:** Fanny Ccahuana Condori

**Procedencia de las muestras:** Mercado Central de San Pedro-Cusco

**Tipo de muestra:** Queso fresco artesanal

**Tipo de análisis:** Recuento microbiano de *Staphylococcus aureus*

**Fecha de análisis:** 06 de julio del 2022

#### Resultados del análisis microbiológico

N° de Muestra	Procedencia	UFC/g	Límite/g	N° de Muestra	Procedencia	UFC/g	Límite/g
M 1	Anta	$176 \times 10^3$	$10 - 10^2$	M 11	Chumbivicas	$6 \times 10^3$	$10 - 10^2$
M 2	Anta	0	$10 - 10^2$	M 12	Anta	0	$10 - 10^2$
M 3	Ayaviri	0	$10 - 10^2$	M 13	Ocongate	$174 \times 10^3$	$10 - 10^2$
M 4	Chumbivicas	$1 \times 10^3$	$10 - 10^2$	M 14	Ocongate	0	$10 - 10^2$
M 5	Anta	$59 \times 10^3$	$10 - 10^2$	M 15	Anta	$1 \times 10^3$	$10 - 10^2$
M 6	Anta	$351 \times 10^3$	$10 - 10^2$	M 16	Ocongate	$5 \times 10^3$	$10 - 10^2$
M 7	Anta	0	$10 - 10^2$	M 17	Ocongate	$2 \times 10^3$	$10 - 10^2$
M 8	Anta Ancawasi	$147 \times 10^3$	$10 - 10^2$	M 18	Ocongate	$3 \times 10^3$	$10 - 10^2$
M 9	Anta	$11 \times 10^3$	$10 - 10^2$	M 19	Chumbivicas	$216 \times 10^3$	$10 - 10^2$
M 10	Ocongate	0	$10 - 10^2$	M 20	Anta	$66 \times 10^3$	$10 - 10^2$

Atentamente,

  
UNIVERSIDAD SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO  
FLA  
Dr. Edgar A. Valdez Gutiérrez  
DOCENTE

Dr. M.V.Z. Edgar A. Valdez Gutiérrez

Responsable de laboratorio

Anexo 11. Certificado de calidad de los medios de cultivos microbiológicos de las Placas Petrifilm™ para recuento de E. coli/Coliformes, 3M™ Placas Petrifilm™ Staph Express para recuento de Staphylococcus aureus, 3M™ Agua de peptona Buferada ISO 500 g Placas 3M™ Petrifilm™ Salmonella Express (SALX), 3M™ Enriquecimiento base para Salmonella 500 g, 3M™ Suplemento para Enriquecimiento base para Salmonella frasco X 1 g

# 3M Health Care

3M Center  
St. Paul, MN 55144-1000

## Certificate of Analysis

### Product Identification

3M Catalog Number	3MBPW500
Product Description	3M 500g Buffered Peptone Water ISO
3M Stock Number	70-2011-7372-4
3M Lot Number	2107GN01
Expiration Date	August 29, 2026

### Specifications of product:


Appearance: Tan  
pH (acceptable range: 6.8-7.2): 7.05

### Biological Performance Testing:

Test Strain	Analysis	Disposition
Acceptable Range	10-100 CFU	Pass
Enterococcus faecalis ATCC 33186	87	Pass
Escherichia coli ATCC 25922	33	Pass
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	79	Pass
Salmonella enteritidis ATCC 13076	62	Pass
Salmonella typhimurium ATCC 14028	66	Pass

This letter certifies that the product described above has been tested and found to comply with 3M's product performance specifications applicable to subject device at time of manufacture.

### Prepared By:

Signed:   
Name: Patrick McMonagle  
QA/QC Representative  
Date: 10/8/2021

# 3M Health Care

3M Center  
St. Paul, MN 55144-1000

## Certificate of Analysis

### Product Identification

3M Catalog Number	SEB500, SEB025
Product Description	3M Salmonella Enrichment Base 500 grams, 2.5kG
3M Stock Number	70-2011-7370-8, 70-2011-7371-6
3M Lot Number	2107FU01
Expiration Date (YYYY-MM-DD)	2023-08-18

### Specifications of product:

Property	Specification	Result
Powder Color	Yellow to Amber	Yellow
Prepared Medium Color	Amber	Amber
Precipitate	None	None
pH	7.0 +/- 0.2	7.09

This letter certifies that the product described above has been tested and found to comply with 3M's product performance specifications applicable to subject device at time of manufacture.

Prepared By: Patrick McMonagle  
Date: 10/8/2021

QA Representative Signature:



# 3M Health Care

3M Center  
St. Paul, MN 55144-1000

## Certificate of Analysis

### Product Identification

3M Catalog Number	SESUP001
Product Description	Salmonella Enrichment Supplement 1 g
3M Stock Number	70-2007-7435-7
3M Lot Number	R012-85
Expiration Date (YYYY-MM-DD)	2022-08-11

### Specifications of product:

**Powder Color:** Light Green  
**Prepared Medium Color:** Green  
**Precipitate:** Trace  
**pH (acceptable range: 6.8-7.2):** 7.09

### Biological Performance Testing:

Test Strain	Acceptable Range	Test Result
S. Typhimurium ATCC 14028	Visible Turbidity	Visible Turbidity
S. Enteritidis ATCC 49223	Visible Turbidity	Visible Turbidity
C. freundii 548	No Visible Turbidity	No Visible Turbidity
E. coli 723	No Visible Turbidity	No Visible Turbidity

This letter certifies that the product described above has been tested and found to comply with 3M's product performance specifications applicable to subject device at time of manufacture.

Prepared By: Patrick McMonagle  
Date: October 8, 2021



QA Representative Signature.



Petrifilm™

4Created by Authorized Personnel: Agnieszka Górnik, 2021-11-30

Manufacture Date: 2021-11-25

Expiration Date: 2023-05-26

Product Manufacturing Certificate

Certificate of Analysis

Product: 3M™ Petrifilm™ E. coli/Coliform Count Plates 6404 or 6414 or 6444
Batch: 418321329E
Stock Number: UU008196428 or UU008196477 or UU008196345
ERP Number: 7100126767 or 7100126845 or 7100126811

Table with 3 columns: Organism Tested, Growth Specification, Result. Rows include Enterococcus faecalis, Enterobacter amnigenus, Escherichia coli, Hafnia alvei, Klebsiella oxytoca, and Salmonella Typhimurium.

\*Expressed as the number of standard deviations away from the average count on standard agar medium.

ISO 11133:2014 Performance Testing

Table with 3 columns: Organism Tested, Growth Specification, Result. Rows include various strains of Escherichia coli, Citrobacter freundii, Pseudomonas aeruginosa, and Enterococcus faecalis.

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance. 3M Brookings is certified to ISO 9001 through an independent agency.

3M Health Care
3M Center, Building 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000 Phone: 1-800-328-1671

3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Please recycle.
Printed in USA © 3M 2017. All rights reserved.

Version 7

EC
E. coli/Coliform Count Plate



Petrifilm™

Created by Authorized Personnel: Lola Johnson, 2021-07-26

Manufacture Date: 2021-07-21

Expiration Date: 2023-01-19

**Product Manufacturing Certificate**

**Certificate of Analysis**

Product: 3M™ Petrifilm™ *Salmonella* Express Plate 6536 or 6537  
 Batch: 33F73A  
 Stock Number: 70-2007-6998-5 or 70-2007-6999-3  
 ERP Number: 7100039574 or 7100039575

Organism Tested	Minimum Growth	Result
<i>Salmonella enterica</i> subsp <i>enterica</i> Typhimurium ATCC 14028	Typical Growth	Pass
<i>Salmonella enterica</i> subsp <i>enterica</i> Enteritidis ATCC 49223	Typical Growth	Pass
<i>Citrobacter freundii</i> FSD 548	Atypical Growth	Pass
<i>Escherichia coli</i> FSD 723	Atypical Growth	Pass

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance. 3M Brookings is certified to ISO 9001 through an independent agency.

3M Health Care  
 3M Center, Building 275-5W-01  
 St. Paul, MN 55144-1000 Phone: 1-800-328-1671

3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Please recycle.  
 Printed in USA © 3M 2017. All rights reserved.

Version 2

**SALX**  
*Salmonella* Express Plate





Petrifilm™

Created by Authorized Personnel: Agnieszka Górnik, 2021-08-25

Manufacture Date: 2021-08-11

Expiration Date: 2023-02-09

**Product Manufacturing Certificate**

**Certificate of Analysis**

Product: 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plates 6446, 6490 or 6491  
 Batch: 418321223A  
 Stock Number: 70-2007-9229-2 or 70-2007-9230-0 or 70-2007-9228-4  
 ERP Number: 7100090291 or 7100090292 or 7100090307

Organism Tested	Growth Specification	Result
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 49476	Productivity Ratio≥0.5	Pass
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	No or Atypical Growth	Pass
<i>Bacillus atrophaeus</i> ATCC 9372	No or Atypical Growth	Pass

**ISO 11133:2014 Performance Testing**

Organism Tested	Growth Specification	Result
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (WDCM 00032)	Productivity Ratio≥0.5	Pass
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (WDCM 00034)	Productivity Ratio≥0.5	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (WDCM 00013)	No Growth	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 (WDCM 00012)	No Growth	Pass
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 (WDCM 00036)	No or Atypical Growth	Pass
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> ATCC 15305 (WDCM 00159)	No or Atypical Growth	Pass

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance of ISO 11133. 3M Woodland is certified to ISO 9001 through an independent agency.

3M Health Care  
3M Center, Building 278-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000 Phone: 1-800-328-1671

3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Please recycle.  
Printed in USA © 3M 2017. All rights reserved.

Version 01

**STX**  
Staph Express Count Plate

100