

## **“Análisis Microbiológico en Quesos Frescos que se Expenden en Supermercados en la Ciudad de Guayaquil. Determinando la Presencia o Ausencia de *Listeria* y *Salmonella*”**

Plaza Ibarra Luis Antonio, Morales Romo-Leroux Ma. Fernanda, ESPOL

Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción- Ingeniería en Alimentos  
Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)  
Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral  
Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador  
[laplaza@espol.edu.ec](mailto:laplaza@espol.edu.ec) [mmorales@espol.edu.ec](mailto:mmorales@espol.edu.ec)

### **Resumen**

*En este trabajo se plantea demostrar la falta de control en la inocuidad de los quesos en percha que se expenden en los supermercados de la ciudad de Guayaquil. En donde la problemática consiste en presentar vacíos legales en la normativa para quesos frescos en cuanto a especificaciones microbiológicas. Además no se cuenta con un banco de datos de toxiinfecciones alimentarias que se hayan presentado en nuestro país. Las muestras tomadas y el tipo de muestras se tomaron en base a datos estadísticos en función de la aceptación del consumidor y lugar de preferencia en el momento de la compra. Por esto se toman las marcas de mayor aceptación y los lugares con mayor concurrencia.*

*Habiendo terminado con el análisis previo a la experimentación, se define los microorganismos indicadores *Listeria* y *Salmonella*; la elección se da por ser patógenos que atentan directamente con la salud de los consumidores. Debido a las condiciones propias de los quesos, los cuales crean un ambiente propicio para la proliferación de los mismos. Es la razón por la cual forman parte fundamental de este estudio.*

*Para determinar la presencia y/o ausencia de *Salmonella* y *Listeria*, como agentes contaminantes en quesos frescos, se utilizaron métodos de rápida detección y métodos tradicionales normados. Realizando un comparativo entre ambos métodos. Mientras que para demostrar que los datos obtenidos son fiables, hubo la necesidad de homologarlos en un ente acreditado y normado en este caso el laboratorio que validado los resultados microbiológicos para cada microorganismo fue Laboratorios Avilés Vélez (AVVE).*

*De Los resultados obtenidos se logra evidenciar presencia de *Salmonella* spp. en un 13.71% de los quesos analizados (8/51); para el caso de *Listeria*, se lograron detectar presencia en un 52.94% de los quesos analizados (28/51).*

**Palabras Claves:** *quesos frescos, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., consumidores, supermercados.*

### **Abstract**

*This paper proposes to demonstrate the lack of control over the safety of cheeses that are sold in supermarkets in the city of Guayaquil. Where the issue is to present lack of regulations for fresh cheeses regarding microbiological specifications.*

*Also there is not a database of food poisoning that has arisen in our country. Samples taken and the type of samples were taken on the basis of statistical data based on consumer acceptance and preference rather than at the time of purchase. Therefore, take brands places greater acceptance and more competition.*

*Having completed the analysis prior to experimentation, defined indicator microorganisms *Listeria* and *Salmonella*, the choice is given to be pathogens directly threaten the health of consumers. Due to the conditions of*

*the cheese, which create an environment conducive to the proliferation of the same. It is the reason why a critical part of this study.*

*To determine the presence and / or absence of Salmonella and Listeria, as contaminants in fresh cheeses were used rapid detection methods and traditional methods regulated. Making a comparison between the two methods. While to demonstrate that the data are reliable, there was the need to verify for a body accredited and regulated in this case the laboratory which has validated microbiological results for each organism was Vélez Avilés Laboratories (AVVE).*

*From the achieved results demonstrate the presence of Salmonella spp. 13.71% in one analyzed cheeses (8/51) for the case of Listeria was able to detect presence of a 52.94% analyzed cheeses (28/51).*

**Keywords:** *fresh cheese, Salmonella spp., Listeria spp., consumers, supermarket.*

## 1. Introducción

Las enfermedades transmitidas mediante alimentos (ETA) son uno de los principales problemas de salud a nivel mundial y causa importante de reducción en el crecimiento de la seguridad alimentaria; sin embargo, en la mayoría de los casos se desconoce el origen.

En Guayaquil, el consumo de quesos frescos es masificado, mientras la producción y la comercialización del mismo se da artesanalmente hasta industrialmente. La elección del consumidor será siempre en función del lugar de expendio y el costo. Direccionando el muestreo a lugares de expendio que cumplan con las exigencias del consumidor.

La forma de ofrecer los alimentos a los consumidores no debe presentar alto riesgo sanitario, así como las condiciones en que se expenden dichos productos deben ser apropiadas, para que no favorezca en la contaminación microbiológica.

El Ministerio de Salud Pública (MSP) en el 2008 registró más de 10000 casos de intoxicaciones producidas por alimentos; pero no se cuantificaron por alimentos o por microorganismos indicadores.

Por esta razón, resulta de particular importancia tratar de determinar el impacto en el expendio de quesos frescos en supermercados de la ciudad de Guayaquil, los cuales no deben presentar índices de microorganismos patógenos. Los alimentos perecederos y los que requieren mucha manipulación, son los que se ven frecuentemente involucrados, entre ellos destacan los productos lácteos y cárnicos.

La calidad microbiológica de los alimentos que se expenden en la ciudad de Guayaquil se ha analizado

en diferentes puntos de expendio. En este estudio se demostró que los sitios de preferencia para los consumidores hay incidencia de los microorganismos indicadores *Listeria spp.* y *Salmonella spp.* Evidenciado el riesgo epidemiológico que representan.

En el capítulo uno, se recopila la reseña bibliográfica de los microorganismos indicadores *Listeria spp.* y *Salmonella spp.* En donde se recopila las condiciones para su resistencia, control y prevención. Se realiza un estudio de las normativas establecidas para quesos frescos. Además se recopilan datos de las ETA's producidas por quesos frescos.

En el capítulo dos se realiza el desarrollo metodológico en el cual se define el sector muestral, las condiciones físicas que presentan las muestras. Se logra estandarizar el método de muestreo para que estadísticamente sea válido.

Posteriormente se hace el análisis para la elección del método de detección rápida y a su vez un comparativo con un método tradicional y normado. Se realiza un análisis estadístico de concordancia entre los dos métodos. Para aseverar estos resultados se validan los análisis con un ente acreditado y normado, determinando la fiabilidad de los datos obtenidos experimentalmente.

En el capítulo tres se exponen los resultados encontrados en todos los análisis realizados desde el punto de vista microbiológico y estadístico. En el cual se representan con tablas y gráficos, las tendencias obtenidas para cada análisis. Se demuestra estadísticamente la validez de los métodos utilizados, la concordancia entre los métodos rápidos y los tradicionales también se demuestra el incumplimiento de la norma partiendo de las especificaciones microbiológicas establecidas para los quesos frescos.

Por último, en el capítulo cuatro se detallan las conclusiones y recomendaciones de acorde con la evidencia encontrada en esta tesis.

## 2. Diseño Metodológico.

Con los antecedentes encontrados se realiza el análisis para demostrar los objetivos trazados, en donde se definen los métodos para obtener resultados que sean veraces.

Se logra la definición de un método de muestreo que permita disminuir el número de muestra dentro de un gran segmento muestral. Se definen los métodos de análisis; un método de rápida detección y un método tradicional para corroborar los datos obtenidos por el método rápido. Estadísticamente se realiza una concordancia entre los dos métodos y evidenciar de la confiabilidad de los métodos y los resultados. Se demuestra la incidencia de los microorganismos indicadores por el tipo de Supermercado y por marca de queso muestreada.

### 2.1. Identificación del Sector Muestral.

El presente trabajo se realizó en la ciudad de Guayaquil dentro de la zona urbana. Guayaquil tiene un total de 16 parroquias urbanas que conforman la cabecera cantonal, y se encuentran ubicadas al noreste del cantón. La parroquia Tarqui es la de mayor área y población, ocupando casi en su totalidad la mitad superior la ciudad, con una población de 935.486 habitantes según datos ofrecidos a partir del censo poblacional realizado en el 2010. La segunda más extensa y poblada es la de Ximena con 500.076 habitantes, y ocupa la mayor parte del sur de la ciudad. La tercera más poblada y la más representativa de las parroquias urbanas de Guayaquil es Febres Cordero, con 341.334 habitantes.

### 2.2. Toma de Muestras Bases.

Primero se realizó un muestreo aleatorio por atributos, en donde se puntualiza los atributos definidos por el sector muestral. En donde se referencia un supermercado perteneciente al sector urbano, pero en Samborombón y en donde hay una concurrencia masiva de consumidores todos los días. En su stock posee tres marcas de quesos que son industrializadas y por su trayectoria son una tradición en el mercado.

Cabe recalcar que en la percha de este supermercado, se encontraron 11 marcas de quesos frescos y con la utilización de la Military Standar MI14TD-1050 en donde se redujo la población de 11 unidades de muestra a tan solo 3. Y por cada marca se tomó 5 muestras. En este primer muestreo se tomaron 5 quesos de 250 g. por cada marca. Un total de 15 quesos.

Las muestras, fueron tomadas en forma directa de las perchas de refrigeración, luego fueron depositadas y guardadas en un contenedor con hielo a 6°C para mantener las muestras hasta su llegada al laboratorio. El tiempo máximo de transporte de las muestras fue de 5 horas. Este muestreo se realizó en el mes de Agosto del 2011, este supermercado fue muestreado en sólo una ocasión.

Para el muestreo zonal en la parroquia Tarqui de Guayaquil, se realiza una división dentro de la parroquia. Conociendo cual es el número de supermercados presentes en la parroquia. Y de ser de una misma cadena, considerarlo. Existiendo tres cadenas de supermercados dentro de la parroquia con sucursales de 10 a 15 por cada cadena.

Muestreando solo dos cadenas de supermercados de las cuales serán solo tres sucursales por cada cadena. Con las tres mismas marcas en todos los locales visitados. El número de muestras a obtener se calculó por medio de la utilización de los procedimientos establecidos en la Military Standar MI14TD-1050.

Se considera necesaria la caracterización de las características de las muestras tomadas. Teniendo un estándar en base a los parámetros físicos de supervivencia de los microorganismos indicadores.

La caracterización de estos parámetros es muy simple; ya que las mismas son entendidas y practicadas por los consumidores. Siendo la razón del enfoque de los parámetros de temperaturas, pH y la caracterización organoléptica.

### 2.3. Elección del Método.

En la actualidad existen varios métodos convencionales y rápidos disponibles para la detección e identificación de *Listeria* y *Salmonella* en muestras de alimentos y en ambientes de manufactura de los mismos. Los métodos bacteriológicos convencionales son importantes por varias razones: su empleo permite obtener el microorganismo en cultivo puro, lo que será útil para fines reglamentarios. Siguen siendo los métodos de referencia frente a los cuales se comparan y validan otros métodos. Normalmente, estos métodos son muy sensibles y no requieren un equipamiento sofisticado o costoso.

Algunas desventajas de este grupo de métodos incluyen el periodo de tiempo relativamente largo que se necesita para completar los protocolos, la experiencia práctica que se precisa en varias manipulaciones, la necesidad de productos químicos, reactivos y medios muy diferentes, la posibilidad de que algunos microorganismos contaminantes enmascaren la presencia de las bacterias diana,

incluyendo una posible falta de detección de variantes atípicas del microorganismo diana y la subjetividad relativa que supone la interpretación del crecimiento bacteriano en placas de agar con un medio selectivo y diferencial.

Los análisis de tipo convencionales necesitan tiempos de incubación muy largos, por lo que resulta inadecuado para los requerimientos actuales dentro de empresas industrializadas, que desencadenen brotes de transmisión alimentaria y de casos esporádicos, así como para la puesta en práctica de programas efectivos de análisis de riesgos y control de puntos críticos (HACCP) en las plantas de procesamiento y producción de alimentos.

Es debido a los requerimientos del sector industrial, que en esta tesis se realizará la detección de *Listeria* y *Salmonella* partiendo de métodos de rápida detección; son los usados en la industria. Pero se validarán con los métodos convencionales normados. Donde se evidenciara falsos positivos, que pudiesen resultar de estos métodos de rápida detección.

#### 2.4. Métodos de Análisis Estadístico.

Los resultados obtenidos a partir de las muestras por analizar, serán tabuladas en Minitab 15.0 para determinar la prevalencia de *Listeria spp.* Y *Salmonella spp.* en las diferentes marcas de quesos. También se realizara una validación comparativa en donde se evidenciara el nivel de concordancia de los métodos utilizados.

El estudio de validación comparativa incluyó tres características de la prueba: precisión relativa (CA) y especificidad (SP), y éstos se calcularon y se define como se ha descrito previamente. Los resultados falsos negativos (FN) los resultados fueron definidos como muestras en las que se obtienen resultados positivos por el método rápido y resultados negativos con el método convencional.

Los falsos positivos (FP) los resultados fueron definidos como las muestras con resultados negativos en el método rápido y los resultados positivos del método convencional. Kappa de Cohen ( $\kappa$ ) se calculará según lo descrito por NMKL para cuantificar el grado de acuerdo entre los dos métodos ( $\kappa > 0,80$  significa muy buen acuerdo entre los métodos). Con el coeficiente de Kappa de Cohen, se trata de medir el grado de acuerdo entre los dos métodos que clasifican el análisis microbiológico propuesto.

Los resultados obtenidos en el ensayo colectivo se analizaran de acuerdo a las recomendaciones de NordVal. SP se calculó para las muestras por la siguiente ecuación:  $E = (1 - [FP/N]) \times 100\%$ , donde

N-refiere al número total de muestras. AC se calculó para todos los niveles de adición por la siguiente ecuación:  $AC = ([PA + NA + FP] / N) \times 100\%$ , donde N es el número de muestras ensayadas.

#### 2.5 Validación.

Para garantizar que los resultados obtenidos en este trabajo. Hay que tomar la responsabilidad de que los resultados que se encuentren sean exactos, válidos y confiables, a tal punto que proporcionen información útil acerca de la inocuidad y calidad sanitaria de los quesos frescos que se expenden en los supermercados de la ciudad de Guayaquil.

Por esto se rige la necesidad de comparar los análisis que se realicen por un patrón normado. Siendo en este caso una laboratorio acreditado por la OAE.

#### 3. Resultados y Discusión.

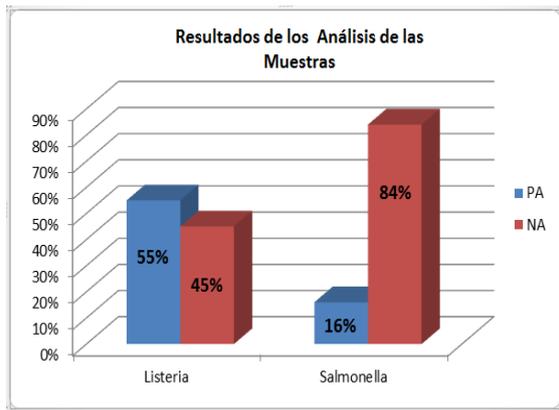
Las muestras fueron tomadas en dos cadenas de supermercados, se recolectaron y analizaron 51 muestras de quesos provenientes de seis supermercados ubicados en el Norte de la ciudad de Guayaquil y uno en el cantón Samborondon. En los supermercados muestreados se tomó como referencia la cantidad de unidades de quesos presentes en las perchas, cuantificándolos por tipos.

Con relación a los patógenos analizados, se encontró evidencia de *Salmonella spp.* en los quesos analizados 8/51 (13.71%); para el caso de *Listeria*, se lograron detectar 28/51 (52.94%) cepas correspondientes al género *Listeria spp.*

##### 3.1. Resultados a través de Pruebas de Rápidas Detección.

Los resultados obtenidos en las muestras analizadas reflejan la falta de inocuidad de los quesos que se expenden en los supermercados de Guayaquil.

Los resultados de los análisis refleja la presencia de *Listeria* y *Salmonella* en los quesos muestreados. Sin embargo hay una mayor incidencia de *Listeria*.



**Gráfico 1.-** Resultados de las Muestras por el Método de Rápida Detección.

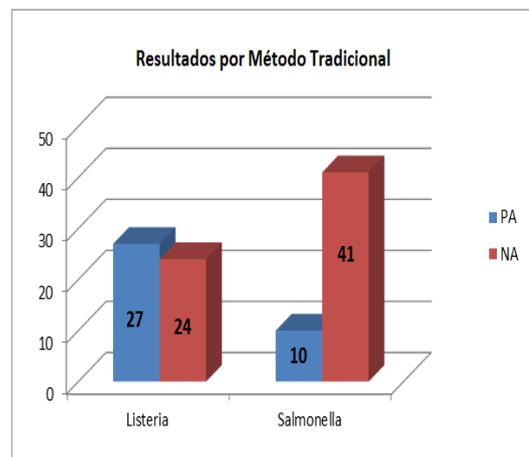
La grafica evidencia la presencia de *Listeria* en el 55% de las muestras tomadas; mientras para *Salmonella* solo se evidencia un 16% de muestras positivas.

### 3.2. Resultados a través de Métodos Convencionales

El método convencional da la pauta, siendo un confirmativo en la presencia o ausencia de los microorganismos en cuestión. Al ser normados tienen la veracidad de sus procedimientos, aunque lleven mucho tiempo versus las pruebas de rápida detección. Pudiendo cuantificar el número de colonias existentes en la muestra de análisis.

La utilización de medios selectivos y altamente selectivos, crean un margen de error mínimo para que se pueda encontrar otra especie en dichos medios. Dando certeza de los datos que se obtienen a partir de estos análisis.

La experimentación se realizó tomando en referencia la Norma Técnica Colombiana NTC-4666 para la detección de *Listeria*, esta norma fue considerada por la carencia de una norma dentro de la normativa ecuatoriana. Mientras que la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1529 -15:2009 fue la referencia en la detección de *Salmonella*.



**Gráfico 2.-** Resultados de las muestras por el Método Tradicional

De las 51 muestras analizadas por el método tradicional para *Listeria*, en los análisis se detectaron positivos en 27 muestras. Mientras que para *Salmonella* se detectaron 10 muestras positivas.

Los resultados por el método tradicional ratifica la supremacía en la presencia de *Listeria* en las muestras, aunque la presencia para *Salmonella* es evidenciable en menor cantidad.

### 3.3. Homologación de Las Pruebas Rápidas y Los Métodos Convencionales

Para validar los resultados obtenidos, es necesario comparar los datos obtenidos con las pruebas rápidas y validarlos con un método convencional normado. Descartando Falsos positivos o Falsos Negativos. Siendo también una prueba para medir la eficacia y confiabilidad de las pruebas rápidas.

Se midió el nivel de concordancia entre los dos métodos usados para la detección de *Listeria* y *Salmonella*. Se cuantifica el número de muestras analizadas por cada marca, se dan los resultados positivos y negativos. Con los resultados obtenidos por el método tradicional se confirman o se descartan los resultados obtenidos por el método de rápida detección.

Se realiza la verificación de la concordancia clasificando resultados en Falsos Negativos (FN) para análisis que dieron negativos por el método de rápida detección y positivos en el método tradicional. Mientras que los Falsos Positivos (FP) son para los análisis que dieron positivos por el método de rápida detección y negativos en el método tradicional.

El nivel de concordancia entre los métodos utilizados se verifica hallando el índice de Kappa. Ya que la precisión en la utilización de un método o procedimiento se ve afectada por factores fundamentales:

la variación propia del método utilizado o procedimiento y experiencia del analista.

Se detalla la tabla del análisis de la concordancia entre los métodos utilizados para la detección para *Listeria* spp. y *Salmonella* spp. Este análisis se realiza con el índice de cohen's, comprobando así la eficacia de la metodología usada en los análisis realizados.

Muestras	Nº de Muestras					% Evaluado		K <sup>c</sup>
	N	PA	NA	FN	FP	AC	SP	
Marca A	17	13	4	0	0	100	100	1,00
Marca B	17	11	2	4	0	76	76	0,87
Marca C	17	0	17	0	0	100	100	1,00
TOTAL	51	24	23	4	0	92	92	0,91

<sup>a</sup> PA: Positivas, NA: Negativas, FN: Falsos Negativos, FP: Falsos Positivos, AC: Efectividad Relativa, SP: Especificidad Relativa, N= PA + NA + FN + FP.  
<sup>b</sup> Estos resultados se dan después de la confirmación.  
<sup>c</sup> Estas matrices son definidas por la norma NORDVAL [15]. Donde se hizo una comparación trial de marcas de quesos frescos.  
<sup>d</sup> El índice de Cohen's kappa se calculó de acuerdo al procedimiento NMKL Nº 20 [26].

**Grafico 3.-**Análisis de concordancia de los métodos utilizados para la Detección de *Listeria* spp.

Muestras	Nº de Muestras					% Evaluado		K <sup>c</sup>
	N	PA	NA	FN	FP	AC	SP	
Marca A	17	2	15	0	0	100	100	1,00
Marca B	17	3	9	5	0	71	71	0,90
Marca C	17	0	17	0	0	100	100	1,00
TOTAL	51	5	41	5	0	90	90	0,81

<sup>a</sup> PA: Positivas, NA: Negativas, FN: Falsos Negativos, FP: Falsos Positivos, AC: Efectividad Relativa, SP: Especificidad Relativa, N= PA + NA + FN + FP.  
<sup>b</sup> Estos resultados se dan después de la confirmación.  
<sup>c</sup> Estas matrices son definidas por la norma NORDVAL [15]. Donde se hizo una comparación trial de marcas de quesos frescos.  
<sup>d</sup> El índice de Cohen's kappa se calculó de acuerdo al procedimiento NMKL Nº 20 [26].

**Grafico 4.-** Resultados de las Muestras por el Método Convencional

### 3.4. Análisis Estadístico

Después de haber realizado un análisis de concordancia entre los métodos utilizados para la detección de *Listeria* spp y *Salmonella* determinando una concordancia muy alta. Es necesario determinar estadísticamente si las hipótesis establecidas en base a criterios técnicos, llegando a la conclusión de su validez o no con la evidencia de los datos obtenidos.

Se evaluó mediante una prueba pareada en Minitab si existe una diferencia estadística entre los métodos utilizados para la detección de los patógenos indicadores. Encontrando una diferencia estadística significativa, con un valor  $p= 0.659$ , razón suficiente para descartar que los métodos utilizados sean diferentes.

Se establece que la incidencia de *Listeria* y *Salmonella* están asociada a las condiciones de expendio de los quesos frescos encontrando mayor incidencia en los Supermercados de la cadena B con una evidencia estadística ( $p=0.03$ ) que da validez a la influencia en las cadenas de supermercados.

Ligado a este análisis se evalúan que las temperaturas de refrigeración en las perchas eran diferentes, se evaluaron estadísticamente el parámetro de temperatura. Encontrando que hay una evidencia estadística ( $p=0.02$ ) que indica la influencia de la temperatura de almacenamiento en las perchas incide en la presencia de los microorganismos.

Con los datos encontrados se establece como hipótesis que las marcas de quesos frescos seleccionadas son incidencia directa en la presencia o ausencia de *Listeria* y *Salmonella* en las muestras analizadas obteniendo suficiente evidencia estadística ( $p=0.003$ ) para concluir que las marcas de quesos seleccionada tienen incidencia en la presencia de *Listeria* spp.

Mientras que para *Salmonella* spp., no hay la suficiente evidencia ( $p=0.368$ ) para determinar que las marcas de quesos seleccionadas son incidencia en la presencia.

### 3.5. Análisis de la Normativa

Se procede a revisar cada uno de los parámetros para microorganismos patógenos descritos por la norma. Se revisa la tolerancia para *E. Coli* de máximo 100 colonias y *S. aureus* máximo hasta 100 colonias.

Se realiza una experimentación en las muestras tomadas después del análisis para los patógenos indicadores. Se realiza este análisis con el afán de comparar sus parámetros reales frente al marco legal que se rigen, se realiza para cada una de las marcas muestreadas.

**Tabla 1.-** Resultado del análisis microbiológico de *E. coli* en las marcas de quesos muestreados

Muestra	Resultado (NMP/g)	Norma (NMP/g)
Marca A	>1100	Ausencia
Marca B	>1100	Ausencia
Marca C	19	Ausencia

Los análisis reflejan que en la Marca A y B en la lectura del Numero Más Probable presentan altas cargas de microorganismos viables pero no se detectó presencia de E.coli mientras en la Marca C la carga de células viables fue tan solo de 19 marcando una ausencia..

**Tabla 2.-** Resultados del análisis microbiológico de *S. aureus* en las marcas de quesos muestreados

Muestras	Resultado (UFC/g)	Norma (UFC/g)
Marca A	$3.4 \times 10^2$	100
Marca B	$3.7 \times 10^2$	100
Marca C	$3.4 \times 10^2$	100

Para los análisis de *S. aureus* se presentó valores por encima de los límites permitidos en las marcas A y B, mientras la Marca C reporto valores dentro de los parámetros.

**Tabla 3.-** Resultados del análisis microbiológico de mohos y levaduras en las marcas de quesos muestreados

Muestras	Resultado (UPC/g)	Norma (UPC/g)
Marca A	10	$5 \times 10^4$
Marca B	10	$5 \times 10^4$
Marca C	10	$5 \times 10^4$

En análisis para hongos se presentaron todos los valores muy por debajo de los rangos permitidos en todas las marcas de quesos muestreados.

#### 4. Conclusiones y Recomendaciones

De acuerdo a los resultados se concluye lo siguiente:

1.-Se logra evidenciar la presencia de microorganismos patógenos como *Listeria* y *Salmonella* en los quesos frescos muestreados en los supermercados de mayor concurrencia en la ciudad de Guayaquil, obteniendo resultados a partir de métodos de rápida detección y su posterior validación con métodos tradicionales por un laboratorio acreditado.

2.- Debido a que las normas ecuatorianas establecidas para quesos frescos no plantean especificaciones para *Listeria*, por lo que las referencias para este microorganismos fueron tomadas de las norma técnica colombiana NTC-4666 y según datos proporcionados por el Ministerio de Salud no se han notificado casos confirmados de listeriosis pues el factor común en estos casos han sido la intoxicación con productos lácteos, siendo los quesos el de mayor incidencia. Y el sector vulnerable los niños, ancianos, mujeres embarazadas y personas inmunodeprimidas.

3.- Mientras que para *Salmonella* se cuenta con una norma de detección y se determina estrictamente ausencia en quesos frescos, el Ministerio de Salud notifica que la salmonelosis es una de las principales causas de morbilidad en la población ecuatoriana; y por ende ambos microorganismos patógenos representan una grave amenaza para la salud, afectando principalmente a los niños y a las personas de la tercera edad, y otros sectores vulnerables.

4.- Se estableció que la incidencia de *Listeria spp.* en quesos frescos que se expenden en supermercados de Guayaquil fue del 55%. Sin embargo, en las mismas muestras no se detectó presencia de *Salmonella spp.*; posiblemente por condiciones de stress nutricional y ácidos orgánicos en los quesos muestreados

5.-De la misma manera, se evidenciaron diferencias significativas al analizar los supermercados de procedencia, encontrándose mayor incidencia de *Listeria spp.*, en los Supermercados de la cadena B. Mientras que al realizar el análisis entre las marcas de quesos hay una diferencia altamente significativa entre las marcas de los quesos muestreados, por lo tanto existen diferencias en las condiciones en la manufactura de los mismos.

6.-Los métodos utilizados para la detección de *Salmonella* y *Listeria*, presentaron ventajas con los métodos tradicionales en cuanto al tiempo de los resultados ya que solo tardan 24 horas, mientras que el método tradicional va desde los tres días hasta 5 días. Adicionalmente es determinante, la confiabilidad que presentan pues al calcular el índice de Cohen´s Kappa se demuestra que el nivel de concordancia de los métodos está en un valor de 0.9 que se interpreta como muy concordante. Y a la vez se obtiene un respaldo estadístico en cuanto a la confiabilidad de los análisis.

7.-El desafío para la industria alimentaria es mantener alejados a los microorganismos patógenos de los lugares donde se procesan o almacenan alimentos listos para el consumo. Para ello, deben tenerse implementados rigurosos programas de limpieza y sanitización y utilizar higienizantes o biocontroladores capaces de eliminar a los patógenos, incluso cuando éstos forman biofilm. También, se deben implementar

sistemas eficaces para el aseguramiento de la inocuidad, independientemente del tamaño de la empresa.

8.- La validación de los métodos de limpieza de las superficies en contacto con los alimentos en las plantas procesadoras es de suma importancia, pudiendo determinar malas operaciones de limpieza con validaciones periódicas que indiquen que son causa de contaminación en el producto terminado.

9.- Los resultados de la validación de las pruebas microbiológicas realizadas determinan la presencia de *Listeria* en la MARCA "A" y la MARCA "B" mientras que en la MARCA "C" no se reportaron presencia ni para *Salmonella* ni para *Listeria*. Estos resultados reflejan que en dos de las marcas existe una carencia en la aplicación de temas dirigidos a la inocuidad como las buenas prácticas en la manufactura y/o la verificación del cumplimiento de los programas que controlan el acopio de materias primas, producción, manipulación, almacenamiento y transporte. Cubriendo los diferentes eslabones de la cadena alimentaria.

10.- La interpretación de los resultados microbiológicos se realiza en base a la norma INEN NTE 1528 para quesos fresco evidenciándose que la MARCA "A" está fuera de las especificaciones por reportar presencia de *E. coli*, mientras la MARCA "B" reportó un valor de  $3.7 \times 10^2$  UFC/g para *S. aureus*, encontrándose dentro de los parámetros permitidos y para la MARCA "C" no se reportó patógenos.

11.- En cuanto a la interpretación de los resultados organolépticos fue unánime por el número de panelista participante en la elección por el queso de la MARCA "C", ya que su color era blanco marfil y su olor no fue penetrante ni tampoco escandaloso como el resto de los demás quesos, puesto que las caseínas presentes en él no estaban descompuestas.

12.- En la elección del método de detección de los microorganismos, el método más práctico y de bajo costo, sin duda alguna, son los métodos de rápida detección, debido a que no requieren muchos equipos de laboratorio que ocupen espacio y tiene una alta confiabilidad frente a otros métodos.

13.- Posteriormente a la homologación de los resultados por cada metodología utilizada, se realizó la comparación con un laboratorio externo acreditado para la validación de los datos obtenidos y el estudio realizado. Por lo tanto, es de suma importancia ver las variaciones entre los métodos y la sensibilidad que declaran los métodos de rápida detección.

14.- Dada la sensibilidad y rapidez para la obtención de resultados mediante el método de rápida detección, es factible utilizar este método como único para la detección de *Salmonella* y *Listeria*, ya que este

método se encuentran validado por la AOAC, dejando como pruebas confirmatorias a los métodos tradicionales y seleccionando solamente aquellas muestras de las cuales se sospechan que podrían reportar presencia de estos microorganismos, pudiendo repercutir en la optimización de tiempo y recursos para la obtención de resultados y toma de decisiones.

15.- Es importante, que el consumidor ayude a reducir el riesgo de contraer enfermedades de transmisión alimentaria, teniendo en cuenta a grupos vulnerables a posibles intoxicaciones por el consumo de alto riesgo como los quesos frescos.

16.- Se recomienda extender el análisis hacia los productores para determinar cuáles son los puntos críticos en la contaminación de los quesos frescos durante la producción de los mismos.

17.- La validación de los tratamientos térmicos se debe realizar en función de los patógenos más termo resistente, garantizando la efectividad del proceso en función de la erradicación de los mismos y la disminución de la carga microbiana.

18.- Con este estudio se deja un precedente de la presencia de patógenos en quesos frescos, por lo que se debe seguir desarrollando estudios extendiendo en mayor número de supermercados en diferentes ciudades, aumentando el tamaño muestral que establezcan la incidencia en la salud de la población a nivel nacional.

## 7. Agradecimientos

Sin duda alguna la oportunidad y confianza recibida del Ing. Carlos Juárez, fueron determinantes en la realización de este estudio obteniendo un enriquecimiento técnico total.

## 8. Referencias

[1] ARTAULT, S.; BIND, J. L.; DELAVAL, & GAILLARD, N. AFNOR validation of the ALOA method for the detection of *Listeria monocytogenes* in foodstuffs. Laboratoire de Touraine. Le Bas Champeigné, Parçay-Meslay, France, 2000.

[2] GARCÍA, J. M; ÚBEDA, P. Estudio comparativo de dos métodos para la investigación de *Listeria monocytogenes* en los productos alimentarios. Cuadernos de microbiología 10, Madrid-España, 1998. Págs. 4-5.

[3] GRANADOS, R.; VILLAVERDE, M.C. Microbiología Tomo 1. Bacteriología. Características

y clasificación bacteriana. Paraninfo Editorial, Madrid-España, 2003. Págs. 79-82, 107-109.

[4] GRANADOS, R.; VILLAVERDE, M.C. Microbiología Tomo 2. Bacteriología. Medios de cultivo y pruebas bioquímicas. Paraninfo Editorial, Madrid-España, 2003. Págs. 13-29.

[5] ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the International Union of Biological Sociètes). Salmonella. Microorganisms in Foods 5. Microbiological specifications of food pathogens. Blackie academic & Professional. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland- U.S.A, 1996.

[6] ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods of the International Union of Biological Sociètes). Listeria monocytogenes. Microorganisms in Foods 5. Microbiological specifications of food pathogens. Blackie academic & Professional. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, Maryland- U.S.A, 1996.

[7] Instituto Ecuatoriano de Normalización “NTE INEN 1528, Queso Fresco. Requisitos”. Primera Edición. Ecuador. Disponible en: <http://apps.inen.gob.ec>.

[8] VLAEMYNCK, G.; LAFARGE, V.; & SCOTTER, S. Improvement of the detection of Listeria monocytogenes by the application of ALOA, a diagnostic, chromogenic isolation medium. Journal of Applied Microbiology 88, U.S.A, 2000. Págs. 430-441.