



UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TRABAJO DE TITULACIÓN

Modalidad Publicaciones Científicas/Capítulo de Libro

Tema:

Evaluación de salmonella y shiguela en quesos artesanales sin pasteurizar

Autores:

Dianella Carolina Bailón Pinargote

Tutor:

Pablo Enrique Barreiro Macías

Periodo 2025-1

CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA

La estudiante Dianella Carolina Bailón Pinargote, en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación: “ Evaluación de salmonella y shiguella en quesos artesanales sin pasteurizar ”, modalidad de trabajo de integración curricular publicaciones científicas/capítulo de libro, de conformidad con el Art. 114 del Código orgánico de la economía social de los conocimientos, creatividad e innovación, concedo a favor de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de esta producción, con fines estrictamente académicos. Así mismo, autorizamos a la Uleam de Manta, para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de titulación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

El autor declara que este informe objeto de la presente autorización, es original en su forma de expresión y no infringe el derecho del autor de terceros, asumiendo la responsabilidad por cualquier reclamación que pudiera presentarse por esta causa y liberando a la Uleam.

AUTOR:



Dianella Carolina Bailón Pinargote

CI: 1351182637

CERTIFICADO TUTOR

LA SUSCRITA, SECRETARIA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO, DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD LAICA "ELOY ALFARO" DE MANABÍ,

CERTIFICA:

Que el/la señor/ita **BAILON PINARGOTE DIANELLA CAROLINA**, con documento de identidad No. **1351182637**, ha cursado y aprobado todas las asignaturas del Pensum Académico de la Carrera de Laboratorio Clínico, las mismas que son de carácter obligatorio.

Certificación que confiero en vista de la respectiva documentación que reposa en la Dirección de la Carrera de Laboratorio Clínico, en el sistema histórico de Secretaria General y en la base de datos del Sistema de Gestión Académica (SGA).

Lo certifico, Manta al 06 de febrero del 2026



Lcda. Lurién Santana Burgos

Secretaria

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

Av. Circunvalación Vía a San Mateo
www.uleam.edu.ec



Certificado de Antiplagio



CERTIFICADO DE ANÁLISIS
magister

Evaluación de Salmonella y Shiguela en quesos artesanales sin pasteurizar



Nombre del documento: Evaluación de Salmonella y Shiguela en quesos artesanales sin pasteurizar.docx
ID del documento: 3f51c578d3854a5f8f3eb765f08c19b8bd7e1af9
Tamaño del documento original: 4 MB

Depositante: PABLO BARREIRO MACIAS
Fecha de depósito: 4/12/2025
Tipo de carga: interfase
fecha de fin de análisis: 4/12/2025

Número de palabras: 7903
Número de caracteres: 58.292

Ubicación de las similitudes en el documento:



Fuentes principales detectadas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	Análisis antiplagio - Diagonella.docx Análisis antiplagio - Diagonella #11645 Viene de mi biblioteca 2 fuentes similares	26%		Palabras idénticas: 26% (2169 palabras)
2	dSPACE.esPOCH.edu.ec http://shiguela.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/20999/1/56701223.pdf 2 fuentes similares	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (40 palabras)
3	www.dSPACE.unach.edu.ec Evaluación de la calidad microbiológica de dispositivos... http://www.dSPACE.unach.edu.ec/handle/25000/16915	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (25 palabras)
4	TESIS Medellin Julissa Peñarrieta Cedeño.docx TESIS Medellin Juliss... #54266 Viene de mi grupo	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (24 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	ribuni.uni.edu.ni https://ribuni.uni.edu.ni/6611/1/Art.%5B.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (40 palabras)
2	Tesis. Determinación de la inocuidad microbiana de quesos artesana... #541018 Viene de mi grupo	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (23 palabras)
3	revistas.utb.edu.ec http://revistas.utb.edu.ec/index.php/revistas/article/view/10136	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (22 palabras)
4	dSPACE.unach.edu.ec Repositorio Digital UNACH: Evaluación de la calidad micro... http://dSPACE.unach.edu.ec/handle/1000/15197	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (19 palabras)
5	www.ncbi.nlm.nih.gov Hygienic Practices of Vendors and Their Contribution to ... https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10014450/	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (20 palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitudes detectadas) Estas Fuentes han sido citadas en el documento sin encontrar similitudes.

- <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/294c88a9-ad32-474b-8644-b53b53ce329/content>
- <https://www.igualdadgenero.gob.ec/wp-content/uploads/2022/10/LEY-ORGANICA-DE-SALUD-LOS.pdf>
- <https://www.fda.gov/food/food-safety-modernization-act-fsma/full-text-food-safety-modernization-act-fsma>
- <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.025>
- <https://doi.org/10.1155/2024/8869022>

Dedicatoria

Dedico el presente artículo científico, fruto de esfuerzo, constancia y aprendizaje, a mis padres, por ser mi pilar fundamental y el motor que impulsa cada uno de mis sueños. Gracias por su amor incondicional, por creer en mí incluso en los momentos en que yo dudaba, y por enseñarme que la educación es la herramienta más poderosa para transformar nuestra realidad.

A mis mejores amigas, por acompañarme en cada etapa del camino, por escuchar mis dudas, celebrar mis logros y sostenerme en los días difíciles. Su amistad ha sido refugio, inspiración y fuerza constante.

Y a todas las personas que, de una u otra manera, han formado parte de mi proceso académico y personal, aportando palabras de aliento y confianza.

Agradecimiento

Agradezco profundamente a mi madre, Marianela Pinargote, por su amor infinito, su sacrificio silencioso y su apoyo incondicional en cada paso de mi formación profesional. Gracias por enseñarme con el ejemplo el valor de la perseverancia, la responsabilidad y la fe. Este logro también es suyo, porque sin su guía, paciencia y esfuerzo constante, nada de esto habría sido posible.

Extiendo mi agradecimiento a mi padre, Franklin Bailón por su respaldo moral y económico, por motivarme a seguir adelante y por recordarme siempre la importancia de luchar por mis metas.

Asimismo, agradezco a mis amigas y seres queridos, quienes me brindaron ánimo y comprensión durante el desarrollo de este trabajo.

Finalmente, a mis docentes y a la institución, por la orientación académica y las herramientas brindadas para la elaboración de este artículo científico.

INDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	8
ABSTRACT.....	9
INTRODUCCIÓN.....	10
Fundamentación Teórica	11
MATERIALES Y METODOS	13
Plan de Muestreo.....	14
RESULTADOS	15
DISCUSIÓN	19
CONCLUSIONES.....	21
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	23

INDICE DE TABLA

Tabla 1. Resultados de análisis de Salmonella spp.	15
Tabla 2. Resultados de análisis de Shigella spp.	16
Tabla 3. Especificaciones de Medios de Cultivo y Condiciones de Incubación	17
Tabla 4. Pruebas Bioquímicas de Confirmación e Interpretación	18
Tabla 5. Control de Calidad Interno y Validación de Resultados	18

Evaluación de salmonella y shigella en quesos artesanales sin pasteurizar
Evaluation of salmonella and shigella in unpasteurized artisanal cheeses

Dianella Carolina Bailón Pinargote

<https://orcid.org/0009-0003-7022-638X>

dianellabailon12@gmail.com

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Ecuador

Pablo Enrique Barreiro Macías

<https://orcid.org/0009-0001-2822-938X>

pbarreirrom@yahoo.com

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Ecuador

RESUMEN

Introducción: La seguridad alimentaria constituye un eje central en la protección de la salud pública, y los productos lácteos representan un grupo de alimentos de especial interés debido a su alto consumo y valor nutricional. Por sus características químicas y biológicas, estos productos pueden servir como medio de proliferación de microorganismos, lo que hace indispensable una evaluación microbiológica rigurosa. **Objetivo:** Determinar la presencia de *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. en muestras de queso artesanal fresco y duro elaboradas sin pasteurización, para evaluar su conformidad con los criterios microbiológicos establecidos en la normativa vigente. **Método:** Se realizó un estudio cuantitativo, no experimental de diseño observacional. El análisis microbiológico, realizado bajo protocolos estandarizados y normativas nacionales e internacionales, incluyó 15 muestras primarias procesadas por duplicado. **Resultados:** Los resultados demostraron la ausencia de ambos patógenos en todas las unidades analíticas, con un límite de detección inferior a 1 UFC/25 g, lo que confirma el cumplimiento de los criterios microbiológicos establecidos. **Conclusiones:** Se atribuye estos resultados favorables a la aplicación de buenas prácticas de manufactura durante el proceso productivo, así como a factores intrínsecos del queso como el pH, la actividad de agua y la acción inhibitoria del microbiota láctico natural.

Palabras clave: Queso artesanal, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, Inocuidad alimentaria, Análisis microbiológico.

ABSTRACT

Introduction: Food safety is central to protecting public health, and dairy products are a food group of particular interest due to their high consumption and nutritional value. Because of their chemical and biological characteristics, these products can serve as a medium for the proliferation of microorganisms, making rigorous microbiological evaluation essential. **Objective:** To determine the presence of *Salmonella* spp. and *Shigella* spp. in samples of fresh and hard artisanal cheese produced without pasteurization, in order to assess their compliance with the microbiological criteria established in current regulations. **Method:** A quantitative, non-experimental, observational study was conducted. The microbiological analysis, performed under standardized protocols and national and international regulations, included 15 primary samples processed in duplicate. **Results:** The results demonstrated the absence of both pathogens in all analytical units, with a detection limit of less than 1 CFU/25 g, confirming compliance with the established microbiological criteria. **Conclusions:** These favorable results are attributed to the application of good manufacturing practices during the production process, as well as to intrinsic factors of the cheese such as pH, water activity, and the inhibitory action of the natural lactic microbiota.

.

Keywords: Artisanal cheese, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, Food safety. Microbiological analysis

INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria constituye un eje central en la protección de la salud pública, y los productos lácteos representan un grupo de alimentos de especial interés debido a su alto consumo y valor nutricional. La autora reconoce que, por sus características químicas y biológicas, estos productos pueden servir como medio de proliferación de microorganismos, lo que hace indispensable una evaluación microbiológica rigurosa (1).

El queso artesanal ocupa un lugar destacado dentro de la gastronomía y la economía local. Su producción, basada en métodos tradicionales, preserva sabores y texturas altamente valorados por los consumidores. Sin embargo, la autora advierte que, al prescindir de etapas como la pasteurización, se incrementa la necesidad de aplicar controles sanitarios exhaustivos para evitar la presencia de agentes patógenos (2).

Entre los microorganismos de mayor preocupación en este tipo de alimentos se encuentran *Salmonella spp.* y *Shigella spp.*. Ambas bacterias son responsables de infecciones gastrointestinales que pueden generar brotes de importancia epidemiológica. Por esta razón, la autora plantea que su detección en quesos artesanales resulta prioritaria para garantizar la inocuidad de los productos que llegan al consumidor (3).

La relevancia de este análisis no se limita al ámbito técnico. La autora destaca que la generación de datos confiables contribuye a reforzar la confianza del consumidor y fortalece la posición de los productores en el mercado. Un producto que ha sido sometido a controles estrictos de inocuidad adquiere un valor añadido que trasciende lo comercial, proyectándose como un elemento clave de sostenibilidad en el sistema alimentario.

Este trabajo se presenta, por tanto, como un aporte significativo al conocimiento sobre la seguridad de quesos artesanales elaborados sin pasteurización. La autora considera que los hallazgos respaldan la continuidad de las prácticas aplicadas, al tiempo que invitan a mantener la

vigilancia y el monitoreo constante, asegurando que los consumidores puedan acceder a un alimento seguro y de alta calidad.

Esta investigación tiene como objetivo principal determinar la presencia de *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. en muestras de queso artesanal fresco y duro elaboradas sin pasteurización, para evaluar su conformidad con los criterios microbiológicos establecidos en la normativa vigente.

Fundamentación Teórica

La producción de quesos artesanales sin pasteurización, aunque altamente valorada por su sabor y autenticidad, plantea un desafío significativo en términos de inocuidad alimentaria. La ausencia de un tratamiento térmico adecuado incrementa el riesgo potencial de contaminación con microorganismos patógenos, entre ellos *Salmonella* spp. y *Shigella* spp., reconocidos a nivel mundial como causantes de infecciones gastrointestinales graves y brotes epidemiológicos. Este riesgo se ve agravado por factores como la manipulación manual durante la elaboración, la variabilidad en las condiciones higiénicas de los procesos y el transporte y almacenamiento en condiciones no siempre controladas (4).

El análisis microbiológico desempeña un papel esencial como herramienta de verificación. A través de técnicas de enriquecimiento, aislamiento, confirmación bioquímica y pruebas serológicas, es posible determinar con precisión la presencia o ausencia de los patógenos estudiados (5). La autora enfatiza que cada una de estas etapas se aplicó siguiendo protocolos validados y bajo condiciones controladas de calidad.

Reportes epidemiológicos evidencian que los productos lácteos no pasteurizados se encuentran entre las principales fuentes de brotes asociados a *Salmonella* y *Shigella*, debido a la manipulación inadecuada de la leche, la falta de control en las condiciones higiénicas y la ausencia de monitoreo microbiológico regular (6). En los mercados locales y ferias populares, donde se expenden quesos artesanales, frecuentemente no se cumplen normas de inocuidad alimentaria, lo

que aumenta la probabilidad de presencia de dichos patógenos y, en consecuencia, el riesgo para los consumidores.

A pesar de la alta demanda y consumo de estos productos, existe escasa evidencia científica actualizada sobre el nivel de contaminación por *Salmonella* y *Shigella* en quesos artesanales sin pasteurizar en la zona de estudio. Esta falta de información limita la formulación de estrategias de control sanitario y prevención de enfermedades de origen alimentario. Por ello, se hace necesario realizar una evaluación que permita determinar la presencia y carga bacteriana de estos microorganismos, con el fin de generar evidencia técnica que contribuya a la vigilancia sanitaria, la regulación de su producción y el fortalecimiento de prácticas de inocuidad en los productores y comerciantes.

El queso artesanal elaborado con leche sin pasteurizar es un producto de amplio consumo en diversas regiones, especialmente en zonas rurales y periurbanas, debido a su bajo costo, fácil accesibilidad y preferencia por su sabor tradicional (7). Sin embargo, la ausencia de procesos térmicos adecuados, como la pasteurización, y las limitadas prácticas higiénico–sanitarias durante su producción, transporte y comercialización incrementan el riesgo de contaminación microbiológica. Entre los patógenos de mayor relevancia, *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. representan una amenaza significativa para la salud pública, ya que son agentes causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), con cuadros clínicos que van desde gastroenteritis aguda hasta complicaciones sistémicas severas (8).

A pesar de la importancia de los quesos artesanales en la economía local y en la cultura alimentaria, existe escasa información científica que evalúe de manera sistemática la presencia de patógenos en estos productos en el ámbito nacional. Esta falta de evidencia limita la capacidad de productores y autoridades sanitarias para implementar medidas preventivas y correctivas que

aseguren la inocuidad. La autora identifica esta brecha como el núcleo del problema: la necesidad de generar datos confiables que permitan conocer el nivel real de riesgo microbiológico en quesos artesanales sin pasteurizar, garantizando así la protección de la salud del consumidor y el cumplimiento de la normativa vigente (9) (10) (11) (12).

Los marcos regulatorios nacionales e internacionales, como el Reglamento Técnico Ecuatoriano RTE INEN 022:2011, el Codex Alimentarius y la Food Safety Modernization Act (FSMA), establecen parámetros microbiológicos claros (13) (14). La autora señala que estos documentos normativos fueron considerados como referencia fundamental en el diseño y ejecución del presente estudio, garantizando que los resultados obtenidos se encuentren alineados con estándares de aceptación internacional

MATERIALES Y METODOS

La investigación se desarrolló bajo un diseño no experimental con enfoque descriptivo (15), aplicando un muestreo aleatorio estratificado por lote de producción. Se recolectaron quince muestras primarias de queso artesanal, correspondientes a variedades de queso fresco y queso duro elaborados sin pasteurización. Cada muestra fue procesada en duplicado, obteniendo un total de treinta unidades analíticas. El tamaño de muestra empleado por análisis fue de 25 ± 0.1 gramos, los cuales se homogenizaron en condiciones estériles y se conservaron a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su procesamiento en el laboratorio.

El análisis microbiológico incluyó las etapas de pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, aislamiento en medios diferenciales y confirmación mediante pruebas bioquímicas y serológicas, de acuerdo con estándares internacionales como el Codex Alimentarius y la normativa RTE INEN 022:2011 (16). Se emplearon controles positivos y negativos, así como verificaciones de esterilidad de los medios, con el propósito de asegurar la validez de los resultados. Los equipos utilizados fueron calibrados bajo normas ISO/IEC 17025:2017 (17), garantizando precisión en las

mediciones. Esta metodología permitió detectar la presencia de *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. con un límite de detección menor a 1 UFC/25 g, brindando información confiable sobre la inocuidad de los quesos artesanales evaluados.

Plan de Muestreo

Para el presente estudio se empleó una estrategia de muestreo aleatorio estratificado, en la que se establecieron dos estratos correspondientes al tipo de producto: queso fresco y queso duro. Se recolectaron un total de quince muestras, distribuidas en siete muestras de queso fresco y ocho muestras de queso duro, con el fin de garantizar una representación equilibrada de ambos tipos dentro del universo de quesos artesanales sin pasteurizar. La selección de las unidades de muestreo se realizó mediante un procedimiento aleatorio dentro de cada estrato, tomando en cuenta diferentes lotes de producción disponibles en la zona de estudio. Cada muestra fue tomada desde distintas zonas de la pieza de queso para asegurar representatividad interna y minimizar sesgos derivados de heterogeneidad en la composición o el manejo del alimento.

Para cada unidad seleccionada, se obtuvo una porción de 25 ± 0.1 g, la cual fue sometida a un proceso de homogeneización utilizando un stomacher a 230 rpm durante dos minutos, garantizando así que el material evaluado fuera uniforme antes del análisis microbiológico. Cada muestra se procesó por duplicado con el fin de verificar la reproducibilidad analítica y reducir la posibilidad de resultados falsos negativos. Adicionalmente, se incluyeron controles positivos mediante cepas de referencia de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ATCC 14028 y *Shigella flexneri* ATCC 12022, así como un control negativo constituido por caldo de lactosa estéril. La esterilidad de todos los medios utilizados también fue verificada previamente para asegurar condiciones óptimas de análisis.

El muestreo se realizó bajo condiciones estandarizadas para evitar la contaminación cruzada y garantizar la calidad del material recolectado. Las muestras se manipularon con utensilios estériles

y se transportaron en cadena de frío inmediatamente después de su obtención, manteniéndose en recipientes aislados térmicamente hasta su recepción en el laboratorio. Toda la información referente al lote, tipo de queso, fecha, origen y condiciones de conservación fue registrada durante la recolección para asegurar la trazabilidad completa del proceso.

Esta estrategia de muestreo garantizó que las quince muestras recogidas fueran representativas de los diferentes lotes disponibles en el mercado local, permitiendo evaluar con rigor la presencia de *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. bajo un diseño metodológico científicamente válido, con controles adecuados y procedimientos estandarizados de preparación y análisis.

RESULTADOS

En esta sección se presentan los resultados obtenidos a partir de la recolección y análisis de datos realizados en 15 muestras de quesos sin pasteurizar distribuidos en 7 muestras de queso fresco y 8 muestras de queso duro. El análisis se realizó sobre muestras representativas de queso fresco y queso duro elaboradas sin tratamiento térmico de pasteurización. El objetivo principal fue determinar la presencia o ausencia de *Shigella* spp. en una porción de 25 g por muestra, aplicando un método microbiológico de referencia basado en las técnicas oficiales establecidas por la Food and Drug Administration (FDA) (18) para la detección cualitativa de bacterias entéricas patógenas.

Tabla 1. Resultados de análisis de *Salmonella* spp.

Muestra	Lote	Tipo de Queso	Resultado	UFC/25g	Observaciones
1	LOCAL9	Fresco	ND	<1	Sin colonias sospechosas
2	LOCAL10	Fresco	ND	<1	Medio limpio
3	LOCAL11	Fresco	ND	<1	Confirmación bioquímica negativa
4	LOCAL12	Fresco	ND	<1	Sin crecimiento en medios selectivos
5	LOCAL14	Fresco	ND	<1	Pruebas serológicas negativas
6	LOCAL15	Fresco	ND	<1	Control positivo satisfactorio
7	LOCALB	Fresco	ND	<1	Réplicas consistentes
8	LOCAL9	Duro	ND	<1	Medio XLD sin colonias típicas
9	LOCAL10	Duro	ND	<1	Hektoen sin colonias verdes
10	LOCAL11	Duro	ND	<1	Confirmación completa negativa
11	LOCAL12	Duro	ND	<1	Resultado validado
12	LOCAL14	Duro	ND	<1	Control negativo aprobado
13	LOCAL15	Duro	ND	<1	TSI: K/K, sin H ₂ S, sin gas
14	LOCALB	Duro	ND	<1	LIA: Purple butt, purple slant

15	LOCALB	Duro	ND	<1	Urea negativa en 24h
----	--------	------	----	----	----------------------

Fuente: Autora

Los resultados presentes en la Tabla 1, evidencian que ninguna de las 15 muestras analizadas de queso artesanal, tanto del tipo fresco como duro, presentó presencia de *Salmonella* spp. (ND; <1 UFC/25g). Esto indica que, en el momento del análisis, las muestras evaluadas no mostraron contaminación detectable por este patógeno. Las observaciones registradas refuerzan la validez del resultado, ya que las pruebas microbiológicas, bioquímicas y serológicas fueron negativas y se cumplieron adecuadamente los controles de calidad. Estos hallazgos sugieren que, aunque los quesos artesanales sin pasteurizar representan un riesgo potencial, en el lote analizado no existió evidencia microbiológica de *Salmonella* spp.

Tabla 2. Resultados de análisis de *Shigella* spp.

Muestra	Lote	Tipo de Queso	Resultado	UFC/25g	Observaciones
1-15	Todos	Todos	ND	<1	Sin colonias incoloras en XLD Sin fermentación lactosa en MacConkey Pruebas bioquímicas negativas Aglutinación serológica negativa

Fuente: Autora

En concordancia con los resultados para *Salmonella*, la totalidad de las 15 muestras analizadas mostró ausencia de *Shigella* spp. (ND; <1 UFC/25g), de acuerdo a los resultados presents en la table 2. Los medios diferenciales utilizados, entre ellos XLD, Hektoen y MacConkey, no presentaron colonias características del género *Shigella*. Además, las pruebas bioquímicas y serológicas no indicaron reacciones compatibles con la presencia del microorganismo. Estos resultados sugieren que los quesos artesanales evaluados no representaron un riesgo microbiológico por *Shigella* spp. al momento del estudio. Sin embargo, al tratarse de un producto

susceptible a contaminación fecal durante su producción y manipulación, la vigilancia continúa siendo necesaria, especialmente si no existen buenas prácticas de manufactura (BPM).

Tabla 3. *Especificaciones de Medios de Cultivo y Condiciones de Incubación*

Medio de Cultivo	Composición Principal	Función	Temperatura	Tiempo	Condiciones	Aspecto de Colonias Suspectas
Caldo Lactosa	Extracto carne, lactosa, peptona	Pre-enriquecimiento	35°C ± 0.5°C	24 h	Aerobiosis	Turbidez (crecimiento inespecífico)
Caldo Tetratiónato	Tioglicolato, tetratiónato, verde brillante	Enriquecimiento selectivo	35°C ± 0.5°C	24 h	Microaerofilia	-
Caldo Rappaport	Cloruro de magnesio, verde malaquita	Enriquecimiento selectivo	42°C ± 0.2°C	24 h	Baño María	-
Agar XLD	Xilosa, lisina, desoxicolato, H ₂ S	Aislamiento	35°C ± 0.5°C	24 h	Aerobiosis	Salmonella: centro negro (H ₂ S ⁺); Shigella: rojas/incoloras
Agar Hektoen	Sales biliares, sacarosa, salicilato	Aislamiento	35°C ± 0.5°C	24 h	Aerobiosis	Salmonella: verde azulado/centro negro; Shigella: verdes
Agar MacConkey	Sales biliares, cristal violeta	Aislamiento	35°C ± 0.5°C	24 h	Aerobiosis	Colonias incoloras (Shigella)

Fuente: Autora

La tabla 3 evidencia que se utilizaron medios de cultivo adecuados y reconocidos para la detección de *Salmonella* y *Shigella* spp. El uso de etapas de pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo y aislamiento en medios diferenciales confirma que el procedimiento microbiológico cumplió con estándares de calidad internacional (ISO, FDA, BAM). Las condiciones de incubación, temperatura, tiempo y atmósfera se encuentran dentro de los parámetros requeridos para favorecer el desarrollo diferencial de enterobacterias. Este procedimiento metodológico reduce la probabilidad de falsos negativos y respalda la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Tabla 4. Pruebas Bioquímicas de Confirmación e Interpretación

Prueba Bioquímica	Medio/Reactivo	Resultado <i>Salmonella</i>	Resultado <i>Shigella</i>	Interpretación
TSI	Agar Hierro Triple Azúcar	K/A, H ₂ S ⁺ (negro), gas ⁺	K/A, H ₂ S ⁻ , gas ⁻	Fermentación glucosa, no lactosa/sacarosa
LIA	Agar Lisina Hierro	K/K, H ₂ S ⁺	K/K, H ₂ S ⁻	Decarboxilación de lisina
Urea	Agar Urea (Christensen)	Negativo (-)	Negativo (-)	No hidrólisis de urea
Citrato Simmons	Agar Citrato	Positivo (+)	Negativo (-)	Utilización de citrato como única fuente de carbono
Motilidad	Medio MIO	Positiva (+)	Negativa (-)	Movilidad bacteriana
Indol	Reactivo de Kovacs	Negativo (-)	Variable (S. sonnei: +)	Producción de indol
Rojo de Metilo	Caldo MR-VP	Positivo (+)	Positivo (+)	Fermentación mixta ácida
Voges-Proskauer	Caldo MR-VP	Negativo (-)	Negativo (-)	Producción de acetoina

Fuente: Autora

Las pruebas bioquímicas incluidas en la tabla 4, como TSI, LIA, Urea, Citrato Simmons, MIO, Indol, RM y VP, constituyen un esquema estándar para la diferenciación entre *Salmonella* y *Shigella* spp. Los resultados esperados se presentaron correctamente, y ninguna de las colonias presuntivas aisladas llegó a confirmarse como positiva para alguno de los dos patógenos. Esto implica que las colonias observadas durante el aislamiento no coincidieron con los perfiles bioquímicos característicos, por lo que fueron descartadas. La correcta aplicación de este panel de pruebas contribuye a la solidez y rigurosidad del diagnóstico microbiológico.

Tabla 5. Control de Calidad Interno y Validación de Resultados

Parámetro de Control	Especificación	Resultado Obtenido	Evaluación	Acción Correctiva (si aplica)
Esterilidad de Medios	Ausencia de crecimiento en 5% de lotes	Cumple (0% contaminación)	Aprobado	-
Recuperación <i>Salmonella</i>	≥50% en muestras fortificadas	95% recuperación	Aprobado	-
Recuperación <i>Shigella</i>	≥50% en muestras fortificadas	89% recuperación	Aceptable	Verificar viabilidad del inóculo
Inhibición Flora Acompañante	≤10 ⁴ UFC/mL en medios selectivos	<10 ³ UFC/mL	Aprobado	-
Controles Positivos	Crecimiento típico en medios selectivos	100% crecimiento	Aprobado	-
Controles Negativos	Sin crecimiento	0% crecimiento	Aprobado	-
Temperatura Incubadoras	35°C ± 0.5°C / 42°C ± 0.2°C	Dentro de rango	Aprobado	Calibración preventiva programada

Consistencia Réplicas	100% concordancia	100% concordancia	Aprobado	-
--------------------------	-------------------	-------------------	----------	---

Fuente: Autora

Los controles de calidad realizados, de acuerdo a la tabla 5, demuestran que el proceso analítico se ejecutó con confiabilidad y precisión. Todos los parámetros evaluados cumplieron con los estándares establecidos, incluida la esterilidad de medios, recuperación de microorganismos en muestras fortificadas, inhibición de flora acompañante, cumplimiento de controles positivos y negativos, temperatura de incubación y reproducibilidad entre réplicas. La recuperación del 95% para *Salmonella* y 89% para *Shigella* en las pruebas de fortificación confirma que el método fue eficaz y sensible. Si bien la recuperación de *Shigella* fue ligeramente inferior, se consideró aceptable y no afecta la validez de los datos. Este cumplimiento integral de los criterios de control de calidad garantiza la confiabilidad de los resultados obtenidos, reduciendo al mínimo la probabilidad de errores analíticos.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidenciaron la ausencia de *Salmonella* spp. y *Shigella* spp. en las 15 muestras de quesos artesanales sin pasteurizar analizadas, tanto en su variedad fresca como dura. Este hallazgo sugiere que, bajo las condiciones y el momento del muestreo, los productos evaluados no representaron un riesgo microbiológico asociado a estos patógenos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Moreano (5), quienes encontraron ausencia de *Salmonella* en el 100% de las muestras de queso fresco artesanal analizadas en mercados locales de Venezuela, atribuyendo el resultado a buenas prácticas de higiene durante la elaboración.

Sin embargo, diversos estudios señalan que la contaminación de quesos sin pasteurizar es frecuente y constituye una preocupación de salud pública. La Organización Mundial de la Salud

(OMS) (19) establece que *Salmonella* y *Shigella* son agentes etiológicos comunes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), particularmente en productos lácteos sin pasteurizar, debido a la manipulación inadecuada y a la falta de pasteurización (20). Por ejemplo, el estudio de Vargas y Aguilera (21), en Colombia reportó una prevalencia del 8,3% de *Salmonella* en quesos artesanales, destacando la influencia de las deficientes condiciones higiénico–sanitarias en la producción. Este contraste sugiere que, aunque en el presente estudio no se detectó contaminación, el riesgo continúa presente y puede variar según la región, temporada y condiciones de manipulación.

La ausencia de *Shigella* spp. coincide con lo encontrado por Delgado y Torres (22), quienes no detectaron este patógeno en muestras de queso artesanal en Perú. Esto puede deberse a que *Shigella* posee menor resistencia y viabilidad en matrices alimentarias con baja actividad de agua y alto contenido de sales como algunos quesos, lo que dificulta su supervivencia. No obstante, su presencia en lácteos ha sido documentada, especialmente cuando existe contaminación fecal directa durante el proceso de producción (23) (24) (25). Por lo tanto, su ausencia en este estudio no excluye la posibilidad de aparición en lotes futuros, especialmente si no se mantienen controles higiénicos adecuados.

En cuanto al proceso analítico, la correcta ejecución de los controles de calidad, incluidos controles positivos, negativos, recuperación, esterilidad y reproducibilidad, refuerza la validación y confiabilidad del método aplicado. Esto se alinea con los estándares recomendados por la ISO 6579-1 (2017) para la detección de *Salmonella* y el Manual Bacteriológico de la FDA, que enfatizan la importancia de aplicar métodos de enriquecimiento, aislamiento selectivo y confirmación bioquímica para evitar falsos negativos. La recuperación del 89% para *Shigella* y del 95% para *Salmonella* se encuentra dentro de los parámetros aceptados, indicando sensibilidad

analítica adecuada, tal como lo destaca Obeid (26) y Jaramillo (27) para pruebas microbiológicas en alimentos.

En conjunto, los resultados sugieren que, aunque las muestras estudiadas no mostraron contaminación con *Salmonella* ni *Shigella*, la literatura científica evidencia que este tipo de productos continúa representando un riesgo microbiológico, especialmente cuando se producen sin pasteurización y bajo métodos artesanales. Por ello, es necesario reforzar la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), capacitación de productores, y monitoreo microbiológico permanente, como recomiendan FAO/OMS (2022) para alimentos de origen lácteo artesanal.

CONCLUSIONES

De acuerdo con la investigación planteada se concluye que:

No se detectó la presencia de *Salmonella* spp. ni *Shigella* spp. en ninguna de las 15 muestras de queso artesanal sin pasteurizar analizadas, tanto en su variedad fresca como en la de queso duro. Esto sugiere que, bajo las condiciones específicas del muestreo, los productos evaluados no representaron riesgo microbiológico asociado a estos patógenos.

Los procedimientos analíticos utilizados fueron confiables y válidos, ya que todos los parámetros de control de calidad interno, incluidos controles positivos y negativos, recuperación de microorganismos, esterilidad de medios y consistencia de réplicas, cumplieron con los estándares establecidos, lo que garantiza la fiabilidad de los resultados.

La correcta ausencia de *Salmonella* y *Shigella* puede estar asociada a la aplicación adecuada de ciertas Buenas Prácticas de Higiene por parte de los productores analizados, aunque no se puede generalizar esta condición a otros productores o regiones, dado que estudios previos demuestran variabilidad en los niveles de contaminación en quesos sin pasteurizar.

Los hallazgos del estudio refuerzan la importancia de mantener y fortalecer las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) en la producción y comercialización de quesos artesanales, así como la necesidad de continuar realizando monitoreos microbiológicos periódicos para la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

A pesar de la ausencia de contaminación encontrada, los quesos artesanales sin pasteurizar continúan siendo considerados alimentos de alto riesgo, debido a la ausencia de un tratamiento térmico y a la posibilidad de contaminación durante la ordeña, producción, comercialización y almacenamiento. Por lo tanto, los resultados obtenidos no deben interpretarse como garantía permanente de inocuidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Sánchez J. Diagnostico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales. [Online].; 2020.. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/106/10646827012.pdf>.
2. Vásquez V. Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos. [Online].; 2021.. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/341/34157105005/html/>.
3. Rodríguez R, Alvarez G. Diagnostico de la calidad sanitaria de queserías artesanales. [Online].; 2022.. Disponible en: [//www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242022000200340](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242022000200340).
4. Vásquez V. Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. [Online].; 2019.. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=34157105005>.
5. Moreano N. Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos de producción artesanal: un enfoque en la seguridad alimentaria y la preservación de métodos tradicionales. [Online].; 2024.. Disponible en: <https://www.reincisol.com/ojs/index.php/reincisol/article/view/321>.
6. Chambillo J. Evaluación de la calidad microbiológica en quesos frescos artesanales comercializados. [Online].; 2019.. Disponible en:

<https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/294c88a9-ad32-474b-8644-b53b53cce329/content>.

7. Plaza L, Fernanda MM. Análisis microbiológico de quesos frescos que se expenden en supermercados de la ciudad de Guayaquil. [Online].; 2020.. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/24428/1/resumen%20luis%20plaza.pdf>.

8. Filian A. Análisis microbiológico de quesos frescos comercializados en la ciudad de Babahoyo. [Online].; 2020.. Disponible en: <https://revistas.utb.edu.ec/index.php/sr/article/view/1016>.

9. Demirci M. Salmonella Spp. and Shigella Spp. Detection via Multiplex Real-Time PCR and Discrimination via MALDI-TOF MS in Different Animal Raw Milk Samples. [Online].; 2019.. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31417051/>.

10. Nacional A. Código Orgánico de la producción, comercio e inversiones. [Online].; 2015.. Disponible en: <https://www.gobiernoelectronico.gob.ec/wp-content/uploads/2018/10/C%C3%B3digo-Org%C3%A1nico-de-la-Producci%C3%B3n-Comercio-e-Inversiones-Copci.pdf>.

11. Unidas N, FAO. Codex Alimentarius. [Online].; 2020.. Disponible en: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/guidelines/en/>.

12. Pública S, MSP. Ley Orgánica de Salud. [Online].; 2022.. Disponible en: <https://www.igualdadgenero.gob.ec/wp-content/uploads/2022/10/LEY-ORGANICA-DE-SALUD-LOS.pdf>.
13. Mercado C. Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: una visión integral agroalimentaria. [Online].; 2020.. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1992/199216580009.pdf>.
14. Demera F. Valoración microbiológica de quesos frescos artesanales no pasteurizados y su relación con el cumplimiento de las prácticas sanitarias. [Online].; 2024.. Disponible en: <https://revistas.csuca.org/Record/ELHIGO20500?print=1>.
15. Sampieri R. Fundamentos metodológicos para investigación clínica en estomatología. [Online].; 2023.. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9388456>.
16. Nacional N, INEN. RTE INEN 022:2011. Productos Lácteos. Requisitos. [Online].; 2020.. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/reglamentos/RTE-022-2R.pdf>.
17. Internacional N, ISO. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. [Online].; 2020.. Disponible en: <https://anab.ansi.org/training/understanding-iso-iec-17025requirements>.

18. Administración, FDA. Full Text of the Food Safety Modernization Act (FSMA). [Online].; 2020.. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/food-safety-modernization-act-fsma/full-text-food-safety-modernization-act-fsma>.
19. Mundial S, OMS. Enfermedades transmitidas por alimentos. [Online].; 2021.. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-transmitidas-por-alimentos>.
20. Fiallos N. Evaluación de la calidad microbiológica de quesos frescos comercializados en el mercado mayorista de la ciudad de Riobamba. [Online].; 2025.. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/15597>.
21. Vargas A, Aguilera B. Caracterización microbiológica de queso fresco artesanal distribuidos en la Hoya del Río Suárez, Colombia. [Online].; 2024.. Disponible en: <https://umapp002.unimagdalena.edu.co/index.php/duazary/article/view/5534/4862>.
22. Delgado R, Torres D. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales. [Online].; 2022.. Disponible en: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/8334>.
23. Figueroa L. Manual de introducción a la inocuidad de los alimentos. [Online].; 2020.. Disponible en: <https://www.oirsa.org/contenido/2019/Manual%20de%20Introduccion%20a%20la%20Inocuidad%20de%20los%20alimentos%20-%20OIRSA.pdf>.

24. Hanson A, Holmes M. Microbiological quality and antimicrobial resistance characterization of *Salmonella* spp. in fresh milk value chains in Ghana. [Online].; 2018.. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29680695/>.
25. García P, Grajales A. Determinación de *Salmonella* spp. en expendios de quesillo y queso picado salado destinados para consumo humano en el Caquetá - Colombia. [Online].; 2022.. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/2913/291371829017/html/>.
26. Obeid K. Implementación y validación de métodos microbiológicos para el análisis de alimentos y bebidas. [Online].; 2022.. Disponible en: <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/51386/krobeidm.pdf;jsessionid=18656C01530175E8CD3C66413C4E5DC1?sequence=3>.
27. Jaramillo M. Evaluación de vida útil en quesos producidos en Cayambe. [Online].; 2020.. Disponible en: <https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/12270/1/UDLA-EC-TIAG-2020-24.pdf>.