

## Artículo de investigación científica y tecnológica

# Caracterización microbiológica de queso fresco artesanal distribuidos en la Hoya del Río Suárez, Colombia

Microbiological characterization of fresh artisanal cheese distributed in the basin of the Suarez River, Colombia

Nadia Alfonso-Vargas<sup>1</sup>, Astrid Aguilera-Becerra<sup>1</sup>, Claudia Jaimes-Bernal<sup>1</sup>, Martín Pulido-Medellín <sup>1</sup>, John Mosso-Arias<sup>1</sup>

Para citar este artículo: Alfonso-Vargas N, Aguilera-Becerra A, Jaimes-Bernal C, Pulido-Medellín M, Mosso-Arias J. Caracterización microbiológica de queso fresco artesanal distribuidos en la Hoya del Río Suárez, Colombia. Duazary. 2024;21:7-18. https://doi.org/10.21676/2389783X.5534

Recibido en octubre 31 de 2023 Aceptado en marzo 25 de 2024 Publicado en línea en marzo 31 de 2024

#### **RESUMEN**

**Introducción:** las enfermedades transmitidas por alimentos se originan por la ingesta de alimentos contaminados con agentes infecciosos que pueden causar daños en la salud del consumidor. **Objetivo:** caracterizar microbiológicamente los quesos frescos artesanales de Hoja provenientes de la Hoya del Río Suárez, Colombia. **Método:** se realizó un muestreo estratificado a conveniencia y se identificaron los microorganismos patógenos y no patógenos. **Resultados:** se analizaron 211 muestras en el periodo 2021-2022, se determinó la presencia de *Salmonella* sp. en 38,3% (n=81) y de *Listeria* sp. en 42,6% (n=90). Adicionalmente, el 12,3% (n=26), 1,8% (n=4) y 11,8% (n=25) de las muestras presentaron recuentos de *Staphylococcus aureus*, coliformes totales y coliformes fecales respectivamente. **Conclusiones:** es alto el aislamiento de microorganismos altamente patógenos en quesos artesanales de esta región colombiana. Se recomienda realizar estudios que permitan ampliar el conocimiento en la microbiología de este tipo de alimentos.

Palabras clave: queso; normas de calidad de los alimentos; inocuidad de los alimentos; Listeria; Salmonella.

#### **ABSTRACT**

**Introduction**: Foodborne diseases are caused by the ingestion of food contaminated with infectious agents that can cause damage to the consumer's health. **Objective**: To microbiologically characterize fresh artisanal cheeses from Hoya del Río Suárez, Colombia. **Method**: Stratified convenience sampling was performed, and pathogenic and non-pathogenic microorganisms were identified. **Results**: 211 samples were analyzed in the period 2021-2022 the presence of *Salmonella* sp. was determined in 38.3% (n=81) and *Listeria* sp. in 42.6% (n=90). Additionally, 12.3% (n=26), 1.8% (n=4) and 11.8% (n=25) of the samples presented *Staphylococcus aureus*, total Coliforms and fecal Coliforms counts respectively. **Conclusions**: The isolation of highly pathogenic microorganisms such as *Salmonella* sp. and *Listeria* sp. It is of relevance in public health. The results obtained will allow the standards of good manufacturing practices to be socialized to producers and marketers, to optimize the quality of fresh cheese and thus improve food security in the region. It is recommended to carry out future studies to expand knowledge of the microbiology of this type of food.

**Keywords:** Cheese; Environmental quality standards; Food safety; *Listeria*; *Salmonella*.

<sup>1.</sup> Universidad de Boyacá. Tunja, Colombia. Correo: ncalfonso@uniboyaca.edu.co - https://orcid.org/0000-0002-6388-5796

<sup>2.</sup> Universidad de Boyacá. Tunja, Colombia. Correo: amaguilera@uniboyaca.edu.co - https://orcid.org/0000-0003-2892-6916

<sup>3.</sup> Universidad de Boyacá. Tunja, Colombia. Correo: cpjaimes@uniboyaca.edu.co - https://orcid.org/0000-0002-8034-190X

<sup>4.</sup> Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Colombia. Correo: mopm1@hotmail.com - https://orcid.org/0000-0003-4989-1476

<sup>5.</sup> Universidad de Boyacá. Tunja, Colombia. Correo: jmmosso@uniboyaca.edu.co - https://orcid.org/0009-0002-4162-4218

# **INTRODUCCIÓN**

El queso fresco artesanal es manufacturado en su mayoría por pequeños productores, y se considera un alimento de amplio consumo a nivel mundial y nacional.¹ La producción constituye una de las principales formas de ingresos para el sector cooperativo y campesino. La calidad e inocuidad de estos alimentos es vigilada por entidades gubernamentales con el objetivo de prevenir las enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs).²

Las ETAs se originan por la ingesta de alimentos o agua, los cuales están contaminados con algún agente infeccioso como bacterias, virus, parásitos, hongos y pueden causar daños en la salud del consumidor.<sup>3</sup> Los síntomas que se presentan comúnmente en una ETA son diarrea y vómito, pero también pueden estar presentes otros síntomas como shock séptico, hepatitis, cefalea, fiebre, visión borrosa, entre otros.<sup>4</sup> La Organización Mundial de la Salud ha reconocido a las ETAs como una problemática de salud pública.<sup>5</sup>

En países industrializados se estima que el porcentaje de afectados por ETAs supera el 30% de la población<sup>6</sup> Las bacterias que frecuentemente se asocian como agentes causales de ETAs corresponden a los géneros *Salmonella* sp., *Bacillus cereus, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Shigella* sp., *Campylobacter* sp., entre otras. Los alimentos más destacados el agua, los productos cárnicos y los derivados lácteos como los quesos frescos<sup>7</sup>. Estos últimos, son elaborados a partir de leches que no son sometidas a tratamientos rigurosos como la pasteurización, lo que los convierte en una fuente potencial de transmisión de patógenos<sup>8</sup>.

Los microorganismos asociados a las ETAs han provocado más de 230.000 defunciones cada año a nivel mundial. Las cepas de *Salmonella entérica* son las más en los brotes en Estados Unidos y países de la Unión Europea. En esta última se presentaron en 2015 más de 100.000 casos de salmonelosis, con un costo estimado de 3 millones de euros. El contro estimado de 3 millones de euros.

*E. coli,* es otro de los patógenos que se puede aislar con relativa frecuencia en el queso fresco y constituye uno de los parámetros importantes para evaluar la calidad sanitaria de los quesos y es un indicador de contaminación fecal.<sup>11</sup> *S. aureus* es otro microorganismo que puede causar patología, tanto en animales como en personas y puede ser encontrado comúnmente en la leche de bovinos, la cuál es usada para consumo directo o elaboración de otros productos como el queso fresco,<sup>12</sup> por ello el queso fresco artesanal se ha convertido en un vehículo transmisor de microorganismos causantes de infecciones alimentarias.<sup>13</sup>

Estudios de la calidad microbiológica y la carga microbiana en leches y derivados lácteos como el queso han sido orientadores, ya que estas características influyen directamente en la vida útil del producto terminado y en la salud del consumidor dado que pueden ocasionar ETAs.<sup>14</sup>

Dada la importancia en la salud pública de los consumidores, en varios países se ha realizado la caracterización microbiológica de quesos artesanales. Varias han sido las investigaciones, es así como en Turquía, el queso blanco artesanal es un producto de amplia distribución y consumo de aproximadamente el 60% de las familias turcas. En este producto se aislaron coliformes, *Salmonella* sp. y *S. aureus*. <sup>15</sup>

Por otra parte, en Italia, se caracterizó microbiológicamente un queso de tipo artesanal producido en Sicilia, en donde se evidenció la presencia de *E. coli*, así como de coliformes, levaduras y mohos.<sup>16</sup> También fue caracterizado el queso artesanal *Raschera*, originario de los Alpes italianos, el cual presentó elevadas concentraciones de levaduras y de aerobios mesófilos en un rango entr e 1x10<sup>8</sup> y

1x10<sup>9</sup> UFC/g.<sup>17</sup> Varios tipos de quesos artesanales originarios de Bélgica fueron caracterizados microbiológicamente y se identificanron *Enterococcus* sp., *L. monocytogenes*, *E. coli* y *Staphylococcus* sp., los cuales son potencialmente patógenos.<sup>18</sup> En el queso artesanal de Polonia, producto de importancia económica local, fue aislado *S. epidermidis* meticilina resistente que presentaba factores de virulencia, los cuales pueden llegar a ser una potencial fuente de transmisión de resistencia a algunos antimicrobianos.<sup>19</sup>

Asimismo, en México el queso artesanal Poro de Tabasco, presentó *S. aureus* y trazos de toxinas en algunas de las muestras analizadas.<sup>20</sup> También, la calidad de 60 muestras de queso fresco artesanal de Michoacán fue evaluada, identificaron en 100% de las muestras la presencia de coliformes totales y fecales, así como *E. coli* en 76,6% de las muestras, mohos y levaduras.<sup>21</sup> Igualmente, en Costa Rica, las condiciones de pH y la actividad del agua del queso artesanal Palmito pueden influenciar en el crecimiento de *L. monocytogenes*, *Salmonella* sp, *E. coli* O157:H7 y *S. aureus*.<sup>22</sup>

En Brasil, la caracterización microbiológica del queso fresco de Minas evidenció la presencia de *S. aureus* formadores de biofilm, así como de enterobacterias.<sup>23</sup> Otro estudio realizado por Novaes en 2023, analizó 364 muestras de queso minas, en las cuales se generó un conteo de coliformes, *E. coli* y *S. aureus* en un rango de 1,0 a 5,3 log CFU/g, 0,3 a 3,3 log CFU/g y 1,0 a 6,3 log CFU/g, respectivamente.<sup>24</sup> Adicionalmente, Bezerra en 2022, analizó 118 muestras de queso artesanal en donde se identificó la presencia de *S. aureus* en 69 de las muestras analizadas, *Enterococcus* sp. y *Enterobacter* sp en 13 y 4 de las muestras, respectivamente.<sup>25</sup>

Por otra parte, en Chile 468 muestras de queso artesanal fueron analizadas y se hallaron en 94 de ellas colonias de *L. monocytogenes*. Duran *et al.* Pevaluaron la calidad microbiológica de quesos artesanales provenientes del estado Lara en Venezuela e identificaron coliformes totales, fecales, la presencia de *E. coli* y de *Citrobacter freundii*, lo que puede indicar la deficiente calidad del producto, lo que representaba un riesgo a la salud de los consumidores. Provenientes de la salud de los consumidores.

De igual manera en Colombia, estudios han demostrado que la presencia de *L. monocytogenes* en quesos frescos de elaboración artesanal ha cobrado bastante importancia, ya que, aunque es un microorganismo emergente, ha alcanzado una tasa de mortalidad del 30% y se ha convertido en un problema de salud pública debido a la gravedad de su sintomatología en diferentes grupos de riesgo y a sus grandes habilidades de crecer en condiciones extremas.<sup>28</sup>

Rodríguez *et al.*<sup>29</sup> determinaron la carga bacteriana y la calidad higiénica de 50 muestras de queso fresco artesanal, obtenidas en las plazas de mercado del municipio de Tunja, donde se efectuaron recuentos de coliformes totales y mesófilos aerobios y encontraron conteos superiores a la norma establecida y, además, evidenciaron una deficiente calidad sanitaria en los productos comercializados.<sup>29</sup> En el departamento de Córdoba, se evaluó las condiciones higiénico-locativas de 360 muestras de queso costeño y se demostró contaminación con valores no aptos para el consumo, equivalentes a coliformes totales (97,5%), coliformes fecales (88,9%), *Staphylococcus* coagulasa positiva (41,4%), mohos (40,4%) y levaduras (96,1%).<sup>30</sup> Sin embargo, hasta la fecha no se han reportado este tipo de estudios en quesos frescos artesanales en los municipios de la Hoya del Río Suárez, por lo que este estudio podría brindar información respecto a la inocuidad que contribuya a la toma de decisiones para optimizar la calidad sanitaria de este este tipo de queso artesanal.

El objetivo de este estudio fue caracterizar microbiológicamente los quesos frescos artesanales de Hoja provenientes de la Hoya del Río Suárez en Colombia.

# MÉTODO

#### Diseño y muestra

Se realizó un muestreo estratificado a conveniencia. La muestra fue calculada en el Software de código abierto OpenEpi para lo que se tuvo en cuenta las tiendas registradas en la Cámara de Comercio de los municipios seleccionados y se obtuvo un total de 466 tiendas. Adicionalmente, se consideraron parámetros como un 95% de confianza y un margen de error del 5%, con una prevalencia estimada del 50%.

#### Colecta y transporte de muestras

Las muestras fueron obtenidas a partir de la compra comercial de los quesos en las tiendas de distribución de 12 municipios de la Hoya del Río Suárez, Colombia. Dichas muestras fueron etiquetadas con número único y fue diligenciada una ficha de datos donde se incluían procedencia, tipo de empaque (Hoja de bijao, Hoja de bijao y plástico) y temperatura de almacenamiento. Posteriormente, fueron transportadas en condiciones asépticas y de refrigeración a 4°C, hasta su procesamiento, El conteo de microorganismos se realizó según lo establecido en la Norma Técnica Colombiana 750 (NTC 750) para este tipo de alimentos.<sup>31</sup>

#### **Procedimiento**

Las muestras de queso fresco artesanal de hoja provenientes de la Hoya del Río Suárez, Colombia fueron colectadas en el periodo correspondiente a los años 2021-2022.

**Metodología para aislamiento y detección de** *Salmonella sp:* se realizó el pesaje de 25 gramos de queso fresco artesanal, el cual se adicionó en 225 ml de agua peptonada, se homogeneizó de 5 a 7 minutos, con un posterior periodo de incubación a 37°C por 24 horas para realizar pre-enriquecimiento no selectivo. Luego se transfirió un 1 ml al Caldo Rappaport y se incubó a 37°C por 24 horas, para realizar un enriquecimiento selectivo. Posteriormente, se transfirió un volumen de 0,1 ml al medio selectivo Salmonella/Shigella (S/S) y se incubó a 37°C por 24 horas.<sup>32</sup>

Una vez se verificó el crecimiento de las colonias en el agar S/S, se realizó la identificación de las colonias presuntivas, las cuáles se caracterizan por presentar un centro de color negro debido a la producción de sulfuro de hidrógeno (H<sub>2</sub>S) que presenta *Salmonella* sp.<sup>32</sup> Finalmente, se efectuó la prueba rápida de identificación cromatográfica Millipore<sup>®</sup> de las colonias presuntivas para determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* sp. en las muestras de queso fresco artesanal.

**Metodología para aislamiento y detección de** *Listeria* sp: para la identificación de *Listeria* sp. se pesó 25 gramos de queso fresco artesanal, y se adicionó en 225 ml de caldo Fraser, el cual es un medio empleado para enriquecimiento selectivo de *Listeria* sp. y se homogeneizó de 5 a 7 minutos, se incubó por un periodo de una semana a temperatura ambiente. <sup>41</sup> Posteriormente, se realizó siembra por agotamiento en agar Palcam, donde se identificaron las colonias presuntivas de *Listeria* sp. <sup>33</sup>

**Metodología para aislamiento y detección de** *S. aureus:* para la determinación de *S. aureus* se pesó 10 gramos de queso fresco artesanal y se adicionaron 90 ml de NaCl al 0,85%, el cual se homogeneizó de 5 a 7 minutos. Posteriormente, se efectuaron diluciones en 9 ml de NaCl y se transfirió 1 ml al agar salado manitol marca Oxoid para conteo en placas, éste medio permite el aislamiento de bact erias

gram positivas y por medio de un indicador de color muestra colonias presuntivas para *S. aureus* de color amarillo, las cuales fueron confirmadas con la prueba de coagulasa.<sup>34</sup>

Metodología para aislamiento y detección de coliformes totales y *E. coli*: se empleó la técnica de número más probable (NMP) y se usó el medio de caldo LMX *Fluoroult* marca Millipore<sup>®</sup>, el cual detectaba simultáneamente la presencia de coliformes totales y fecales, lo que se evidenciaba con cambio de color en el medio y la fluorescencia bajo luz ultravioleta respectivamente. Como prueba confirmatoria de la presencia de coliformes totales se usará el caldo bilis verde brillante (Oxoid<sup>®</sup>) y en el caso de coliformes fecales, el medio EC (Oxoid<sup>®</sup>). Para la confirmación de *E. coli* se usarán placas de agar Levine eosina azul de metileno (EMB) (Oxoid<sup>®</sup>). Se realizaron pruebas bioquímicas: indol, rojo de metilo, Voges-Proskauer y citrato, además de la prueba de fermentación en agar hierro triple azúcar (TSI) y la tinción de Gram.<sup>35</sup>

**Metodología para aislamiento y detección de Aerobios mesófilos:** para este procedimiento se pesó 10 gramos de queso fresco y se adicionó en 90 ml de solución salina (NaCl) marca Supelco<sup>®</sup> al 0,85%. el cual se homogeneizó de 5 a 7 minutos. Posteriormente se realizaron diluciones en 9 ml de NaCl por triplicado se sembraron en agar nutritivo para conteo en placas.

Metodología para aislamiento y detección de Hongos y levaduras: para este procedimiento se pesó 10 gramos de queso fresco y se adicionó en 90 ml de solución salina (NaCl) marca Supelco al 0,85%. el cual se homogeneizó de 5 a 7 minutos. Posteriormente se realizan diluciones en 9 ml de NaCl por triplicado se siembran en agar PDA para conteo en placas.

#### Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo mediante técnicas univariadas, se estimaron distribuciones de frecuencia y cálculo de promedio, inicialmente los recuentos de las Unidades Formadoras de Colonia fueron traspasados a Log en base 10, luego de ello se realizó la comparación con los límites permisibles de la Norma Técnica Colombiana 750 - (NTC750).<sup>38</sup>

#### Declaración sobre aspectos éticos

La presente Investigación se encuentra avalada por el Comité de Bioética de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, con la resolución 06082019 del día 12 de agosto de 2019. Quienes garantizaron el cumplimiento de los principios y normas éticas de la Declaración de Helsinki de 1975 y de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia.

#### **RESULTADOS**

Se analizaron un total de 211 muestras de queso fresco artesanal de hoja provenientes de la Hoya del Río Suárez, Colombia. Los resultados obtenidos en el presente estudio determinaron la presencia de *Salmonella* sp. en el 38,3% de las muestras analizadas (n=81/211) y ausencia en 61,6% (n=130/211) de queso fresco artesanal procesado. Por otra parte, las muestras negativas para la prueba de *Salmonella* sp., fueron analizadas por el sistema de BBL *Crystal*<sup>®</sup>, método por el cual se determinó la presencia de otros microorganismos tales como *Proteus mirabilis, Proteus bulgaris, Klebsiella* sp. En cuanto a la presencia de *Listeria* sp, se determinó presencia en un 42,6% de las muestras (n=90/211).

Por otra parte, 26 (12,3%) de las muestras de queso fresco artesanal procesadas presentaron recuentos

de *S. aureus* dentro de los límites máximos permisibles para indicar nivel de buena calidad microbiológica (m), sin embargo, 185 (87,6%) de las muestras presentaron recuentos por encima de los límites según la Norma Técnica Colombiana 750 - (NTC750).<sup>38</sup> (Figura 1).

En lo que respecta al recuento de coliformes totales 4 (1,89%) de las muestras de queso fresco artesanal presentaron recuentos menores al límite permisible (m) lo que indicaba un nivel de buena calidad microbiológica y 207 (98,1%) muestras presentaron recuentos con un límite permisible (M) mayor a 3,0 log UFC/g, lo que indicaba un nivel de calidad aceptable según la norma NTC750.<sup>38</sup> (Figura 2). Asimismo, 25 (11,8%) de las muestras presentaron recuentos de coliformes fecales dentro del límite permisible de 1,69 log UFC/g, lo que indicaba un nivel de buena calidad según la norma NTC750.<sup>38</sup> (Figura 3).

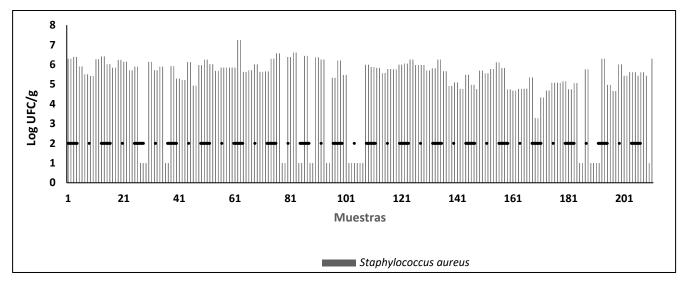


Figura 1. Recuento de S. aureus.

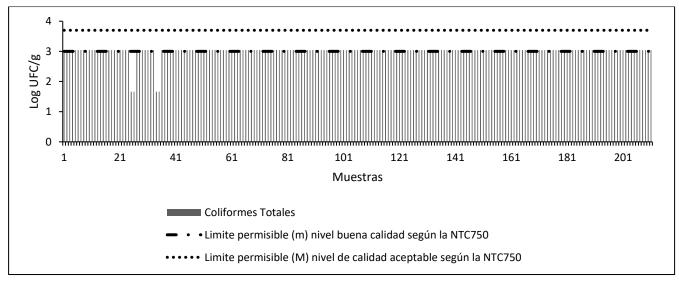


Figura 2. Recuento de coliformes totales.

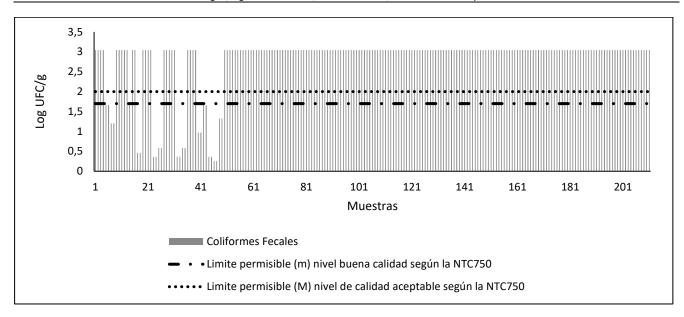


Figura 3. Recuento de coliformes fecales.

El recuento de microorganismos aerobios mesófilos se determinó dentro de un rango entre 4,5 a 6 log UFC/g. Por su parte, la totalidad de las muestras (100%) presentaron un recuento de mohos y levaduras superior a los límites permisibles (m) y solo 2 (0,9%) se encuentran dentro de los límites permisibles de calidad aceptable (M) de 3,6 log UFC/g. Fue evidenciada además la presencia de hongos miceliales en 25 (11,8%) de las muestras de queso fresco artesanal, en donde los géneros que presentaron una mayor prevalencia fueron *Fusarium* sp, *Rhizopus* sp, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp y *Geotrichum* sp (Figura 4).

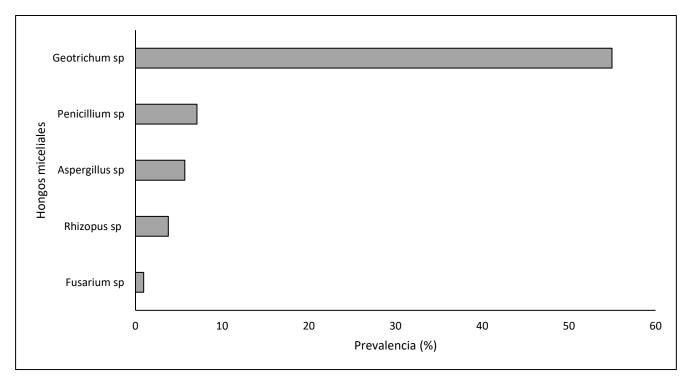


Figura 4. Prevalencia de hongos miceliales.

# **DISCUSIÓN**

En las muestras procesadas en el presente estudio, se encontraron recuentos de microorganismos superiores a la NTC 750,<sup>38</sup> lo cual contrasta con lo reportado por Albarracín *et al.*<sup>8</sup> el cual sugiere que la matriz estructural del queso puede inhibir la presencia de *Salmonella* sp., debido a que provoca lisis en la membrana celular de estos microorganismos, por su alto contenido de ácido acético, butírico y propiónico.<sup>8</sup>

La presencia de *Salmonella* sp. en muestras de queso fresco artesanal y queso costeño en diferentes plazas de mercado, estuvo presente en un 57,8% de los quesos.<sup>36</sup> Estos datos concuerdan en gran parte con los obtenidos en esta investigación, ya que, se obtuvo una prevalencia de *Salmonella* sp. del 38,3% de las muestras de quesos analizadas. Adicionalmente, en Tunja un estudio realizado en 2019 en quesos artesanales reflejó una prevalencia de 3,1% de *Salmonella* sp.<sup>13</sup>

En un estudio realizado en 126 quesos artesanales en plazas de mercado de la ciudad de Cali se halló que el 27% (n=34) de las muestras fueron positivas para *L. monocytogenes*. <sup>37</sup> De otra parte, Arrese *et al.* <sup>38</sup> en España, determinaron la presencia de *L. monocytogenes* en 60% de las muestras analizadas; resultados comparables con los obtenidos en las muestras de quesos frescos de hoja, los cuales presentaron un 42,6% (n=90) de *Listeria* sp. Este microorganismo se considera como un indicador de contaminación en diversos procesos industrializados de producción de alimentos, debido a que se encuentra distribuido en diferentes ecosistemas como el acuático y el terrestre, así como en heces de humanos y animales. <sup>39</sup>

En relación con *S. aureus*, en un estudio en Perú se identificó la presencia de este microorganismo en un 97,4% de las muestras de queso fresco, queso madurado y yogurt, lo cual evidenciaba una alta presencia de microorganismos en productos lácteos, particularmente en el queso fresco artesanal.<sup>40</sup> Resultado comparable con lo obtenido en esta investigación, en donde 87,6% de las muestras presentaron recuentos por encima de los límites según la NTC 750.<sup>31</sup>

Resultados similares se evidenciaron en mercados municipales en Perú, donde el 80% de las muestras analizadas presentaron conteos de *S. aureus* superiores a las normas técnicas establecidas para ese país. 40 Igualmente, resultados de recuentos que superan las normas técnicas se evidenciaron en estudios en Brasil y Venezuela. 24,27 Se asoció al alto grado de contaminación por el contacto con piel, boca y fosas nasales de quienes manipulan el alimento; así como de las superficies de contacto sobre las que se deposita el producto y la falta de refrigeración del mismo. 40

Otros estudios reportaron la presencia de *S. aureus* en quesos blancos, así como la adición de potenciales inhibidores de crecimiento como la nisina los cuales mejoraban la calidad del producto.<sup>21</sup>Adicionalmente, la aplicación de procedimientos operacionales estandarizados y de sanitización los cuales tienen un efecto significativo en la reducción en el producto final de este tipo de microorganismo.<sup>41</sup>

Por otra parte, estudios realizados enfocados a determinar la presencia de coliformes totales y *E. coli* muestran una gran prevalencia de estos microorganismos cuando se trabaja con muestras de queso artesanal, un ejemplo de esto es un estudio realizado en Mérida-Ven ezuela en el que se encontró *E. coli* en todas las muestras analizadas, datos congruentes con la presente investigación.<sup>42</sup> Resultados

concordantes con lo evidenciado en este estudio, donde 98,1% y 88,1% de las muestras analizadas presentaron conteos tanto de coliformes totales, como fecales, respectivamente. Fue este tipo de microorganismos los más comúnmente encontrados en los quesos frescos. <sup>43</sup> Lo cual es asociado a las deficiencias en la calidad microbiológica. <sup>44</sup> Lo que evidenciaba la contaminación fecal directa o indirecta, debido a la falta de higiene durante su elaboración o en la manipulación del producto. <sup>45</sup>

El conteo de mesófilos aerobios presentes en alimentos permite monitorear la implementación de buenas prácticas de manufactura. <sup>46</sup> Por lo que el elevado número de este tipo de microorganismos presentes en las muestras analizadas en este estudio, se pueden asociar a las precarias condiciones higiénicas en los procesos de fabricación de este tipo de alimentos. Así como, las deficiencias en varios factores tales como la baja calidad de la leche empleada, las malas prácticas de manufactura, almacenamiento, transporte y comercialización. <sup>36,46</sup>

Finalmente, en este estudio el 100% de las muestras presentaron recuentos de mohos y levaduras superiores a los límites permisibles; así como 11,8% de hongos miceliales. Resultados que fueron similares a los descritos en otros estudios realizados en quesos artesanales. En Colombia, se analizaron 60 muestras de queso de queso costeño en el que el 63% de las muestras sobrepasan los límites exigidos. Esto es similar a lo reportado por Rosa *et al.*, <sup>48</sup> quienes evidenciaron en los quesos la presencia de mohos y levaduras a lo largo del tiempo. Asimismo, Ruiz *et al.* <sup>47</sup> informaron que el 40% de las muestras presentaron valores inaceptables de mohos y 96% de levaduras, lo que deja en evidencia la deficiente calidad microbiológica de este alimento, lo cual representa una alarma a nivel sanitario.

La detección e investigación de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos constituye uno de los principales retos para el sistema de salud pública.<sup>47</sup> Por lo que los resultados obtenidos en este estudio contribuyen a los estudios epidemiológicos y es un elemento fundamental para los programas de control de inocuidad de los alimentos. Adicionalmente, la identificación de los agentes bacterianos vinculados a los brotes y los medios de transmisión sirven como insumos para llevar a cabo iniciativas de promoción de la salud, enfocadas en fomentar las buenas prácticas de manufactura en la producción de quesos artesanales.

Estos hallazgos sugieren la escasa implementación de las normas de buenas prácticas de manufactura, así como el desconocimiento de la NTC 750 por parte de los productores y comercializadores del producto al momento de elaborar, procesar y distribuir su producto, lo cual repercute directamente en un problema de seguridad alimentaria, lo que afecta a productores y consumidores. Por ello los estudios de calidad microbiológica de estos alimentos evidencian la necesidad de implementar medidas de higiene y vigilancia, control en el manejo, transporte y almacenamiento, así como la capacitación de manipuladores de alimentos.

Como fortaleza del estudio se identifica el número significativo de muestras procesadas por medio de las técnicas estándar lo que permite tener una aproximación más certera de la calidad microbiológica, así como de las condiciones de preparación y manufactura de los quesos frescos artesanales de esta zona geográfica. Por otra parte, como limitante se identifica la ausencia de técnicas rápidas de identificación como Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional o PCR en tiempo real, las cuales pueden ser empleadas en futuros estudios para optimizar el tiempo de análisis y de emisión de los resultados.

### **CONCLUSIONES**

Se demuestra la presencia de *Salmonella sp* y *Listeria* sp y microrganismos en recuentos superiores a los permisibles en la norma colombiana en que quesos esta región. Futuros estudios son necesarios para ampliar el conocimiento en la microbiología de este tipo de alimentos.

#### **AGRADECIMIENTOS**

Agradecimientos a las entidades financiadoras de este proyecto: Universidad del Boyacá y Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

# **DECLARACIÓN SOBRE CONFLICTOS DE INTERÉS**

En lo que respecta a esta investigación, no se presenta ningún tipo de conflicto de intereses entre las entidades y/o participantes de esta.

## **CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES**

**NAV** efectuó conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, método, administración de proyectos, recursos, software, supervisión, validación, visualización, redacción del borrador original y revisión o edición de la redacción.

**AAB** participó en la conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, método, administración de proyectos, recursos, software, supervisión, validación, visualización, redacción del borrador original y revisión o edición de la redacción.

CJB colaboró en la conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, método, administración de proyectos, recursos, software, supervisión, validación, visualización, redacción del borrador original y revisión o edición de la redacción.

**MPM** trabajó en la conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, método, administración de proyectos, recursos, software, supervisión, validación, visualización, redacción del borrador original y revisión o edición de la redacción.

**JMA** participó en la conceptualización, curación de datos, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, método, administración de proyectos, recursos, software, supervisión, validación, visualización, redacción del borrador original y revisión o edición de la redacción.

#### REFERENCIAS

- 1. Castellanos NA, Gómez LM, Parra AK, Neiza NC, Rodríguez MC, Neira YS. Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2019;56:171.
- 2. Flores AY, Armenteros AM, Riverón AY, Remón DD, M artínez VA. Evaluación de la calidad higiénicosanitaria de los quesos frescos artesanales de la provincia Mayabeque, Cuba. Rev Salud Anim. 2020;42:1-6.

- 3. Marín MM, Rodríguez AR, Minier PL, Zayas TE, Soler SR. Caracterización de agentes bacterianos aislados en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. Medisan. 2020;24 2:235-51.
- 4. Forero TY, Galindo BM, Ramírez G. Patógenos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes escolares de Colombia. Rev Chil Nutr. 2017;44:325-32. http://dx.doi.org/10.4067/s0717-75182017000400325
- 5. Guambi D, Diaz G, Marín I, Antamba E. La potencialidad de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) en los conceptos y estilos culinarios: una Revisión. FACSalud-UNEMI. 2022;6:66-75. https://doi.org/10.29076/issn.2602-8360vol6iss11.2022pp66-75p
- 6. Torrens HR, Argilagos GB, Cabrera MS, Valdés JB, Sáez SM, Viera GG. Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. REDVET. Rev Electron Vet. 2015;16:1-27.
- 7. Ruiz MJ. Aislamiento e identificación de bacterias ácido-lácticas con actividad inhibitoria de bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos. [Doctorado en Ciencia Animal]. Argentina: CONICET;2019.
- 8. Albarracin FY, Sarmiento P, Carrascal AK, Mercado M. Estimación de la proporción de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp en quesos frescos (queso de hoja, cuajada) y queso doble crema producidos y comercializados en el Municipio de Pamplona, Norte de Santander. Bist Rev Fac Cien Bas. 2006;4:30-41.
- 9. Méndez IA, Badillo CA, Parra GO, Faccini ÁA. Caracterización microbiológica de *Salmonella* en alimentos de venta callejera en un sector universitario de Bogotá, Colombia. Med UIS. 2011;24:26-33.
- 10. Michanie S. Salmonella en alimentos Cambio de paradigma. Aliment Latinoam. 2015;319:1-17.
- 11. Isaac AR, Deaño MD, Villa MA. Determinación de coliformes totales y *E. coli* en aguas utilizando el Fluorocult LMX (MERCK) II. Valoración económica. Ing Hid Amb. 2003;24:21-30.
- 12. Diaz MC, Ortiz CC. Presencia de factores de virulencia y detección de los genes Eno y Bap en aislamientos de *Staphylococcus* Coagulasa negativos (Scn) procedentes de Mastitis bovina. [Bacteriología y laboratorio clínico]. Bogotá: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca; 2015.
- 13. Merchán N, Zurymar S, Niño L, Urbano E. Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas. Rev Chil Nutr. 2019;46:288-94. http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000300288.
- 14. Ruiz-Cortés T, Orozco S, Rodríguez LS, Idárraga J, Olivera M. Factores que afectan el recuento de UFC en la leche en tanque en hatos lecheros del norte de Antioquia-Colombia. Rev UDCA Act Div Cient. 2012;15:147-55.
- 15. Eljagmani S, Altuner EM. Effect of storage temperature on the chemical and microbiological properties of white cheese from Kastamonu, Turkey. Cogent food Agric. 2020;6:1829270.
- 16. Mangione G, Caccamo M, Marino VM, Marino G, Licitra G. Characterization of the artisanal saffron ricotta cheese produced in Sicily: physicochemical, microbiological, sensory and antioxidant characteristics. J Dair Sci. 2023;106:8375-88.
- 17. Dolci P, Alessandria V, Zeppa G, Rantsiou K, Cocolin L. Microbiological characterization of artisanal Raschera PDO cheese: analysis of its indigenous lactic acid bacteria. F Microbiol. 2008;25:392-9. https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.09.006
- 18. Gérard A, El-Hajjaji S, Burteau S, Fall PA, Pirard B, Taminiau B, et al. Study of the microbial diversity of a panel of Belgian artisanal cheeses associated with challenge studies for *Listeria monocytogenes*. Food Microbiol. 2011;100:103861. https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103861

- 19. Chajęcka-Wierzchowska W, Zadernowska A, Gajewska JS. epidermidis strains from artisanal cheese made from unpasteurized milk in Poland-Genetic characterization of antimicrobial resistance and virulence determinants. International Food Microbiol. 2019;294:55-9. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.02.004
- 20. Ortiz-Estrada ÁM, Heredia-Castro PY, Hernández-Mendoza A, Reyes-Díaz R, Vallejo-Cordoba B, González-Córdova AF. Poro de Tabasco cheese: Chemical composition and microbiological quality during its artisanal manufacturing process. J. Dairy Sci.2020;103:3025-37. https://doi.org/10.3168/jds.2019-17363
- 21. Soria-Herrera RJ, Dominguez-Gonzalez KG, Rumbo-Pino R, Piña-Lazaro A, Alvarez-Perez JJ, Rivera-Gutierrez S, et al. Occurrence of nontuberculous mycobacteria, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, and *Staphylococcus aureus* in artisanal unpasteurized cheeses in the State of Michoacan, Mexico. J Food Prot. 2021;84:760-6. https://doi.org/10.4315/JFP-20-286
- 22. Víquez-Barrantes D, Wong E, Usaga J. Safety assurance assessment of palmito cheese: A Mesoamerican pasta filata unripe artisanal cheese. Int Dairy J. 2024;150:105-37. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105837
- 23. Souza MA, da Silva GC, Lopes U, Rosa JN, Bazzolli DM, de Jesus Pimentel-Filho N. Characterisation of *Staphylococcus aureus* isolated from artisanal unripened cheeses produced in São Paulo State, Brazil. Int Dairy J. 2024;14:105-25. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105825
- 24. Bezerra LR, Saraiva CA, Duarte DC, Santos MS, de Oliveira JS, Neto SG, et al. Physicochemical and sensory analysis of Coalho Cheese supplemented with different concentrations of essential oil of oregano (Origanum vulgare). Food Sci Technol. 2023;43:1-7. https://doi.org/10.5327/fst.0000128
- 25. Barría C, Singer RS, Bueno I, Estrada E, Rivera D, Ulloa S, et al. Tracing *Listeria monocytogenes* contamination in artisanal cheese to the processing environments in cheese producers in southern Chile. Food Microbiol. 2020;90:103499. https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103499
- 26. Duran L, Sánchez C, Palmero J, Chaparro L, Garcia T, Sánchez E. Caracterización fisicoquímica y microbiológica de quesos de cabra en Carora, estado Lara, Venezuela. Zootec Trop. 2010;28:467-76.
- 27. Cáceres EX, Becerra AM, Bernal CP. Determinación del perfil de susceptibilidad a antibióticos de *Listeria* sp. aisladas de leche cruda de vaca en Tunja. Rev Investig Salud Univ Boyaca. 2017;4:38-52. https://doi.org/10.24267/23897325.195
- 28. Pacheco JE, Sandoval LM, Medellín MO, Corredor DJ. Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2016;53(3):1-7.
- 29. Ruíz-Pérez RA, Meneo-Morales NY, Chams-Chams LM. Valoración microbiológica de queso costeño artesanal y evaluación higiénico-locativa de expendios en Córdoba, Colombia. Rev Salud Publica. 2017;19:311-7. https://doi.org/10.15446/rsap.v19n3.54853
- 30. Idarraga-Molina M, Delgado-Núñez V, León-Alférez AM, Osorio-Garcia JA. Análisis microbiológico de queso cuajada en municipios del departamento del Quindío. Rev Ion. 2018;31:49-54.
- 31. Vásquez V, Salhuana JG, Jiménez LA, Abanto Ríos LM. Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. Ecol Apl. 2018;17:45-51. http://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172
- 32. Urbano-Cáceres E, Aguilera-Becerra A, Jaimes-Bernal C, Pulido-Medellín M. *Listeria* sp., in churn storage of raw cow's milk in Tunja-Boyacá. Rev MVZ Cordoba. 2018;23:6871-7. https://doi.org/10.21897/rmvz.1375
- 33. Faría RJ, García UA, Izquierdo CP, Allara CM, Valera LK. Aislamiento de bacterias gram positivas de leche cruda con residuos de antimicrobianos. Arch Latinoam Nutr. 2002;52:68-73.
- 34. Camacho A, Giles M, Ortegón A, Palao M, Serrano B, Velázquez O. Método para la determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple

- (Número más Probable o NMP). Tec Anal Microbio Alim. 2009;1:1-7.
- 35. Ocampo-Ibáñez ID, González C, Moreno SL, Calderón C, Flórez-Elvira LJ, Olaya MB, et al. Presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos artesanales comercializados en Cali, Colombia. Acta Agron. 2019;68:108-14. https://doi.org/10.15446/acag.v68n2.77185
- 36. Arrese ME, Arroyo M. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Idiazabal cheese. Nutr Hosp. 2012;27:2139-41.
- 37. González LJ, Martínez FN, Rossi L, Tornese M, Troncoso A. Enfermedades transmitidas por los alimentos: análisis del riesgo microbiológico. Rev Chile Infectol. 2010;27:513-24. http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182010000700004
- 38. Gonzales MJ, Portocarrero SM, Abanto MS. Calidad de los derivados lácteos producidos en la Región Amazonas, Perú, 2018. Rev Cient UNTRM Cienc Nat Ing. 2019;1:14-9. https://doi.org/10.25127/aps.20211.759
- 39. Saltos SJ, Márquez BY, López AA, Martínez AJ, Guerrero PD. La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos. Conteo microbiológico del *Staphylococcus aureus* en quesos frescos. Rev Med Electron. 2018;40:371-82.
- 40. Guillén L, Millán B, Araque M. Caracterización molecular de cepas de *Escherichia coli* aisladas de productos lácteos artesanales elaborados en Mérida, Venezuela. Infect. 2014;18:100-8. http://dx.doi.org/10.1016/j.infect.2014.04.004
- 41. Carrión González, MG. Evaluación microbiológica de las diferentes etapas del proceso para la obtención de queso fresco en la planta procesadora "Papa Juan" situada en el Cantón "Flavio Alfaro" de la provincia de Manabí [Tesis de pregrado]. Quevedo: Universidad Técnica Estatal de Quevedo; 2016.
- 42. Vásquez A, Víctor SG, Gerardo J, Jiménez D, Ríos A, Leidyn M. Evaluación de la calidad bacteriológica de quesos frescos en Cajamarca. Ecol Apl. 2018;17:45-51. https://dx.doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172
- 43. Espinoza RK., Morales CS. *Salmonella sp* en aves silvestres que habitan alrededor de una granja de cuyes tecnificada en el distrito de Manchay, Lima. Rev de Investig Vet Peru. 2019;30:423-9. http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15698
- 44. Chebeňová TV, Zenišová K, Kuchta T, Pangallo D, Brežná B. Culture-independent detection of microorganisms in traditional Slovakia bryndza cheese. Int J Food Microbiol. 2011;150:73-8. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.020
- 45. Herrera JP, Bermejo MV, Contreras CC, Ochoa TJ, García C. Calidad microbiológica de queso costeño artesanal expendidos en la comuna cuatro de Valledupar, Colombia. Cienc Lat. 2023;7:1387-406. https://doi.org/10.37811/cl rcm.v7i2.5409
- 46. Rosa M, Márquez A, Petro E, Coronado R, Camilo C, Bedoya H, Chams C. Estudio del efecto de una película antimicrobiana en la vida útil del queso Costeño. Cienc Tecnol Aliment. 2015;6:36-56.
- 47. Ruíz RA, Meneo MN, Chams LM. Valoración microbiológica de queso costeño artesanal y evaluación higiénico-locativa de expendios en Córdoba, Colombia. Rev Salud Publica. 2017;1:311-7. https://doi.org/10.15446/rsap.v19n3.54853
- 48. Mesa-Pérez T, Castellanos-Rozo J, Aguilera-Becerra AM. Calidad microbiológica de chorizos procesados en la plaza de mercado del municipio de Sogamoso, Boyacá. Revista Investig Salud Univ Boyaca. 2023;10:78-82. https://doi.org/10.24267/23897325.888