

Determinación de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y coliformes en queso Paraguay comercializado en diferentes puntos de venta de las ciudades; José Falcón, Benjamín Aceval y Villa Hayes 2019.

Determination of Listeria monocytogenes, Salmonella spp. and coliforms in Paraguay cheese commercialized in different sales points in the cities; José Falcón, Benjamín Aceval and Villa Hayes 2019.

Dinatale F¹ , Cardozo L², Vera A¹, Sandoval A¹

¹ Universidad Nacional de Asunción - Facultad de Ciencias Veterinarias - Departamento de Industrias Pecuarias - San Lorenzo - Paraguay.

² Universidad Nacional de Asunción - Facultad de Ciencias Veterinarias - Departamento de Microbiología e Inmunología - San Lorenzo - Paraguay.

RESUMEN. El presente trabajo de investigación fue realizado con el objetivo de determinar *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.* y coliformes en queso Paraguay comercializado en diferentes puntos de venta de las ciudades de José Falcón, Benjamín Aceval y Villa Hayes. Fueron obtenidas 24 muestras de queso Paraguay, las cuales fueron remitidas al laboratorio para su análisis microbiológico por los métodos ISO 4831:2006; ISO 4832:2006; ISO 6785/IDF 093:2001; ISO 1190-1. El estudio reveló que, el 100% de las mismas resultaron negativas para *L. monocytogenes* y para *Salmonella spp.*, sin embargo, se pudo determinar coliformes en el 87% de las muestras, 15 de éstas (62% de total), se encontraron con el recuento fuera del rango permitido por la Norma Paraguaya NP 25 053 11, por otro lado, 6 de las mismas (25% del total) tuvieron un recuento dentro del rango establecido por dicha norma. A partir de los cultivos realizados para el recuento de coliformes se realizó el aislamiento y posterior cultivo de colonias sospechosas de *E. coli*, las mismas, al ser sometidas a las pruebas bioquímicas confirmatorias revelaron que, 9 (38%) de las muestras fueron positivas para dicho microorganismo.

Palabras claves: Queso Paraguay, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, coliformes, *Escherichia coli*.

ABSTRACT. This research work was carried out with the objective of assessing; *L. monocytogenes*, *Salmonella spp.* and coliforms in Paraguay cheese marketed in different sales points of the cities of; José Falcón, Benjamín Aceval and Villa Hayes of the Presidente Hayes Department. A total of 24 samples of cheese Paraguay were obtained, which were analyzed following the ISO 4831:2006; ISO 4832:2006; ISO 6785/IDF 093:2001 and ISO 1190-1 methods. This study revealed that 100% were negative for *Listeria monocytogenes* and for *Salmonella spp.* However, coliforms were found in 87% of the samples, of which 15 (62% of the total) presented coliform counts above the maximum allowed by the Paraguayan Standard NP 25 053 11, on the other hand, 6 samples (25% of the total) had a coliform count within the values established by the standard. In order to confirm *E. coli*, isolation of presumptive colonies were culture and confirmatory biochemical tests were carried out, which revealed that 9 (38%) of the Samples were positive for *E. coli*.

Keywords: Paraguay cheese, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, coliforms, *Escherichia coli*, bacteria, determination.

doi: 10.18004/compend.cienc.vet.2020.10.02.12

Dirección para correspondencia: Dra. Fabiola Dinatale - Universidad Nacional de Asunción, Facultad de Ciencias Veterinarias, Departamento de Industrias Pecuarias - Casilla de Correo N° 1061 - Ruta Mcal. Estigarribia Km 10,5 - Campus Universitario - San Lorenzo-Paraguay.

E-mail: fabioladinatale@vet.una.py

Recibido: 03 de noviembre 2020 / **Aceptado:** 18 de diciembre 2020

INTRODUCCIÓN

La leche es el único componente producido por la naturaleza para funcionar exclusivamente como fuente de alimento. La leche constituye una fuente nutritiva, no superada por ningún otro alimento conocido por el ser humano. Esta es sometida a numerosas transformaciones para su consumo, entre las que podemos citar, el yogurt, la manteca, dulce de leche y lo que nos interesa en este caso, el queso (1).

La elaboración de queso es seguramente la forma más antigua de procesado de la leche. Los diferentes procedimientos de fabricación del queso logran que la caseína adquiera un sabor agradable y característico para cada tipo de queso (2).

El Instituto Nacional de Tecnología y Normalización (INTN) define al queso Paraguayo como; el queso fresco elaborado a partir de leche entera pasteurizada y obtenido por coagulación enzimática de la leche con cuajo y/o otras enzimas coagulantes apropiadas, complementado con bacterias lácticas específicas (3).

El queso, desde el punto de vista higiénico/microbiológico, se encuentra entre los denominados alimentos potencialmente peligrosos, estos son los que están compuestos, total o parcialmente de: leche, huevo, carne, pollo, pescado o mariscos, o los que por otras razones pueden propiciar el desarrollo de microorganismos que producen enfermedades de origen alimenticio. Muchos comestibles muy manoseados, poco o nada calentados, son potencialmente peligrosos (4).

Las ETA (Enfermedades Transmitidas por Alimentos) son aquellas enfermedades que se originan por la ingestión de alimentos infectados con contaminantes (de origen microbiano o no) en cantidades suficientes para afectar la salud del consumidor (5). Brotes de infecciones por *L. monocytogenes* se han observado en varios países por consumo de quesos blandos y de otros alimentos (6). En las últimas dos décadas, en el ámbito mundial, el queso ha sido el principal alimento involucrado en brotes de listeriosis, destacándose el brote en Estados Unidos asociado al consumo de queso "tipo-mexicano" (queso de características similares al queso Paraguayo), con una tasa de mortalidad del 34% (7). La salmonelosis es una de las infecciones transmitidas por alimentos más frecuentes en todo el mundo, habiéndose reportado una incidencia de 1,3

billones de casos de salmonelosis humana por año en todo el mundo, con tres millones de muertes.

Considerando el conjunto de los patógenos asociados a enfermedad transmitida por alimentos (ETA), *Salmonella spp.* es el agente responsable del mayor número de muertes (8). Entre los agentes patógenos que se encuentran dentro del grupo denominado coliformes se tiene que, estudios epidemiológicos realizados en países en vías de desarrollo, incluidos Latinoamérica y México, han demostrado que ETEC (*E. coli* enterotoxigénicas y EPEC (*E. coli* enteropatógenas) son dos de los principales patógenos aislados en los casos de diarrea infantil. Dentro de la vigilancia epidemiológica que llevan a cabo las autoridades de salud en México, se ha comunicado que EPEC se presenta en forma endémica hasta en 6% de la población, una cifra muy parecida a la informada para países industrializados como Alemania y Australia, en los que se ha encontrado que 5.9 y 7.6%, respectivamente, de niños sanos son portadores normales de cepas de EPEC (9).

En el país, las ETA constituyen un aspecto destacable en la salud pública debido principalmente a la falta de un adecuado sistema de vigilancia y control sanitario de los alimentos, la necesidad y/o costumbre de consumir alimentos en lugares que no ofrecen condiciones sanitarias adecuadas; asimismo el subregistro de estos eventos o la clasificación de los mismos a otras patologías tales como enfermedades diarreicas agudas (EDA), enmascaran las verdaderas ocurrencias y daños que sobre la salud de la población ocasiona el consumo de alimentos contaminados (10).

Según la Dirección General de Vigilancia Sanitaria (DGVS), en su boletín epidemiológico semanal Nro. 50 del año 2018, entre los años 2016 y 2018 en Paraguay, se registraron un total de 460 casos notificados de ETA, a razón de 2 casos notificados por cada 1000000 habitantes por año (11).

Si se tiene presente la enorme cantidad de queso producida en el mundo, hay que concluir que, este producto tiene un admirable historial respecto a su seguridad microbiológica. Sin embargo, ha sido el vehículo de ciertos brotes de enfermedades alimentarias (12). Los microorganismos patógenos se agrupan en tres grupos de riesgos basándose en datos epidemiológicos, incidencia en leche y características de los microorganismos individuales. *Salmonella spp.*, *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7 son considerados microorganismos de alto riesgo.

Los de riesgo medio incluyen a *Streptococcus* de los grupos A y C, *Y. enterocolitica*, *Brucella abortus*, *M. bovis*, *P. aeruginosa*, *C. burnetii* y *Aeromonas hydrophila*. *Staphylococcus aureus* y *C. botulinum* se catalogan como de bajo riesgo (13).

El queso Paraguay es un queso de pasta blanda, fresco, no sometido a maduración y la pasta no es objeto de cocción. Los productores de queso Paraguay, para poder comercializar legalmente su producto, están obligados a cumplir con las exigencias establecidas en la norma NP 25 053 11 del INTN, que es el organismo nacional de normalización y tiene por objeto promover y adoptar las acciones para la armonización y elaboración de normas paraguayas; esta norma tiene como fin establecer la identidad y los requisitos de calidad que deberá cumplir el queso Paraguay destinado al consumo humano (3).

MATERIALES Y MÉTODOS.

La ejecución del trabajo se llevó a cabo desde el mes de setiembre de 2019 al mes de setiembre del año 2020. El estudio fue de tipo observacional, descriptivo, prospectivo y de corte transversal. El tipo de muestreo fue No Probabilístico por conveniencia.

El trabajo de campo fue realizado en 12 locales comerciales que expenden queso Paraguay al público en las ciudades de José Falcón, Benjamín Aceval y Villa Hayes del Departamento de Presidente Hayes, Región Occidental de la República del Paraguay. En el mes de setiembre del año 2019 se tomaron muestras de queso Paraguay que estuvieron expuestos para la venta al consumidor, no envasados, que no se encuentren en aparente mal estado (rancio) ni hayan sido sometidos a procesos de maduración.

Se procedió a la obtención de 250g. de queso Paraguay por cada muestra; en cada ciudad se tomaron muestras de 4 comercios diferentes, por cada comercio se hicieron dos tomas de muestras, separadas por 10 días una de la otra, dando un total de 24 muestras de 250 gramos. Los comercios en cuestión fueron elegidos al azar en mercados, ferias, plazas, etc., en cada una de las ciudades mencionadas para este estudio.

Cada muestra de 250 gramos fue introducida en un recipiente individual estéril con cierre hermético y luego colocada en una conservadora

refrigerada a 4° C con hielo seco, posteriormente las muestras conservadas fueron remitidas al laboratorio para su análisis dentro de las 24 horas de su recolección.

El trabajo de laboratorio se realizó en el Laboratorio del Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Asunción, ubicado en la Ciudad de San Lorenzo, Departamento Central, Región Oriental de la República del Paraguay, siguiendo los siguientes métodos:

- Identificación *Listeria monocytogenes* Se siguió el método establecido en la norma NP 25 053 11 (ISO 11290-1)

Se realizó un preenriquecimiento en un medio selectivo y diferencial para aislamiento de *Listeria monocytogenes*, caldo Fraser (media concentración). Luego se tomaron 0,1 ml del preenriquecimiento para colocarlo en 10 ml de caldo Fraser a concentración completa, se incubaron por 24 horas a 35 °C (14).

Posteriormente con el ansa se tomaron las colonias sospechosas de *L. monocytogenes* que fueron colonias de color verde-oliva rodeadas por un halo negro, luego estas se sembraron en medio agar nutritivo para obtener un cultivo puro.

A partir del cultivo puro, se realizó la tinción de Gram en busca de bacilos pequeños Gram positivos sin esporas (a la observación microscópica, las colonias de color verde-oliva rodeadas por un halo negro, fueron sospechosas de *L. monocytogenes*).

En los casos donde se observó colonias como las descritas en el párrafo anterior, se procedió con la prueba de catalasa, luego, de las que resultaron positivas, dichas colonias fueron sometidas a las pruebas bioquímicas confirmatorias para *Listeria monocytogenes* (15).

Pruebas bioquímicas y fisiológicas confirmatorias:

•Prueba de Catalasa.

Los cultivos de *L. monocytogenes* son catalasa positiva, en ese sentido se observa la inmediata formación de burbujas (formación de gas) (15).

•Prueba de movilidad.

Observar el desarrollo alrededor de la línea de punción. En cultivos positivos se produce una zona de difusión del desarrollo más allá de la línea de siembra. Los cultivos de *Listeria spp.* son móviles y producen un desarrollo típico en forma de paraguas. Si fuera negativo, proseguir incubando otros 5 días y observar nuevamente (14).

•Prueba de hemolisis.

Los cultivos de *L. monocytogenes* son beta-hemolíticos, en este caso se observa una zona clara e incolora que rodea a la colonia, debido a la destrucción total de los glóbulos rojos (15).

•Prueba de Manitol y Xilosa.

Los cultivos de *L. monocytogenes* no fermentan manitol ni xilosa (15).

Identificación de *Salmonella spp.* Se siguió el método establecido en la norma NP 25 053 11(ISO 6785/IDF 093:2001).

Se realizó un pre-enriquecimiento de las muestras en Agua peptonada bufferada estéril y se incubó a 37°C durante 20 horas. Luego se realizó el enriquecimiento de las muestras en caldo tetratonato, posteriormente se incubó a 37°C durante 24 horas (15).

Cultivo en medio sólido; se tomó una ansada del caldo de enriquecimiento, se sembró en el medio de cultivo agar XLD (Xilosa, Lisina, Desoxicolato) y se incubó a 37°C durante 24 a 48 h. Luego de la incubación se procedió a la observación de los cultivos, las colonias típicas del Género *Salmonella* son de color rojo con el centro negro debido a la producción de H₂S (15).

Se repicaron las colonias sospechosas a un medio no selectivo, agar nutritivo, en este caso, y luego las colonias puras fueron sometidas a las pruebas bioquímicas: TSI (agar triple azúcar hierro) y LIA (Lisina Hierro Agar) ambos medios de consistencia sólida (16).

El resultado esperado de las pruebas bioquímicas confirmatorias para colonias de *Salmonella spp.* es TSI (agar triple azúcar hierro) positivo para glucosa y negativo para lactosa con o sin formación de H₂S y LIA (Lisina Hierro Agar) positivo. Por lo tanto, los cultivos de las muestras que presenten dicho comportamiento son consideradas

como muestras positivas para *Salmonella spp.* (16).

Determinación de coliformes e identificación de *E. coli* .

Se siguió el método de análisis establecido en la norma NP 25 053 11(ISO 4831:2006 / ISO 4832:2006).

Preparación de la muestra; de cada muestra de queso se procedió a extraer una pequeña porción en forma de cuña con una espátula estéril, en total 10 gramos y fue introducida en 90 ml de agua peptonada bufferada estéril en bolsas Stomacher, se procedió luego a la homogeneización de la muestra en la mezcladora Stomacher. Diluciones: se realizaron las diluciones 1/100 y 1/1000 a partir de las muestras preparadas. Para lo cual se tomaron 1 ml de las diluciones previas y se colocaron en 9 ml de agua peptonada bufferada estéril. Cultivo de superficie: se utilizó medio de cultivo selectivo y diferencial agar McConkey, de cada dilución se pasó 0,1 ml en cada placa de Petri con agar MacConkey y con la espátula de Drigalsky se distribuyó la muestra en forma homogénea. Incubación: se incubaron las placas de Petri a 37 °C durante 24 hs. Observación: Las colonias fermentadoras de lactosa (coliformes) son de color púrpura-rojo, con o sin una zona de precipitado alrededor de las colonias. Las no fermentadoras de lactosa son colonias incoloras a transparentes (17).

Conteo: posteriormente se realiza el conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) fermentadoras de lactosa, que son típicas de coliformes. Se evalúan sólo placas con un crecimiento entre 10 y 300 colonias (18).

El recuento de unidades formadoras de colonias se realizó por medio del siguiente cálculo matemático:

$$R = \frac{\sum(NC * FD)}{PC} \quad (\text{UFC/g})$$

R = Recuento.

Σ = Sumatoria.

NC = Número de colonias contadas por cada placa utilizada para el recuento.

FD= Inversa de la dilución de cada placa utilizada para el recuento.

PC = Número total de placas utilizadas para el recuento.

UFC = Unidades formadoras de colonias.

g = gramos.

* = Signo de multiplicación (17).

Redondear el resultado a dos cifras significativas y expresarlo como un número entre 1 y 9,9 multiplicado por 10^x, en donde “x” es la potencia correspondiente de 10 (17).

-Identificación de *Escherichia coli*.

A las 24 hs. de incubación, se procedió a la observación de los cultivos realizados para el recuento de coliformes que tuvieron más de 10 unidades formadoras de colonias, y se buscaron colonias sospechosas de *E. coli* de acuerdo a características culturales como ser el color, bordes, tamaño, textura y disposición de las colonias. A la observación microscópica, las colonias sospechosas de *E. coli* tienen alrededor de 1 milímetro de diámetro, son fermentadoras de lactosa, rojas oscuras, cóncavas y con halo de precipitado de sales biliares. De las colonias que reunieron las mencionadas características se tomaron 1 a 2 colonias y se sembraron por agotamiento en placas de Petri con agar nutritivo, luego se incubaron a 37 °C por 24 horas, posteriormente se procedió a realizar, a partir de estas, las pruebas bioquímicas confirmatorias, las mismas fueron: Indol, rojo metilo, Voges Proskauer, Citrato de Simmons (IMViC), además, TSI, LIA y Ureasa (16).

El resultado esperado de las pruebas bioquímicas confirmatorias para colonias de *Escherichia coli* es Indol positivo, Rojo de metilo positivo, Voges Proskauer negativo, Citrato de Simmons negativo (IMViC +++-), TSI presenta pico de flauta ácido/profundidad ácido (A/A) además producción o no de gas (+) y H₂S (-), LIA se observa (K/K) además de H₂S (-) y Ureasa negativo (16).

Para la medición de resultados se utilizaron fórmulas matemáticas porcentuales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Sobre un total de 24 muestras analizadas, se obtuvieron los siguientes resultados.

En lo que respecta a *L. monocytogenes*, a través de los análisis realizados se pudo constatar que 24 (100%) de las muestras analizadas resultaron negativas a la presencia de *L. monocytogenes*, aunque se pudo determinar que 1 muestra (4%) resultó positiva para *Listeria spp.* en queso Paraguay.

Dicho resultado podría deberse a que no se

están tomando las medidas higiénicas necesarias para la conservación de los quesos en lugares aislados y seguros fuera del alcance de roedores y animales domésticos, por lo tanto, esta situación es favorable para que en algún momento puedan contaminarse con *L. monocytogenes*. Teniendo en cuenta que este microorganismo se encuentra en el tubo digestivo de los animales, como por ejemplo roedores, y se liberan al ambiente mediante las defecaciones de los mismos, es por esa razón que, prevenir el contacto de estos animales con los quesos es de vital importancia para evitar la posibilidad de que se contaminen con *L. monocytogenes*.

Los resultados de esta investigación son similares a un trabajo realizado en el año 2010, en la ciudad de Asunción, donde se tomaron 50 muestras de queso Paraguay; demostrando que el 100% de las muestras resultaron negativas para *L. monocytogenes* (19).

Cabe destacar que los resultados de este estudio coinciden con un trabajo realizado en el año 2013 en la ciudad de Asunción, Capital, con un total de 27 muestras analizadas, 1 muestra (4%) resultó positiva para *Listeria spp* (20).

Así también, los resultados de esta investigación coinciden con un estudio realizado en Colombia en el año 2016, en la ciudad de Barrancabermeja, Santander, donde se analizaron 35 muestras de queso campesino y no se detectó la presencia de *Listeria spp*. Este queso es de características similares al queso Paraguay, ya que el mismo es también un queso fresco, de pasta blanda, producido de manera artesanal (21).

El presente estudio difiere con una investigación realizada en el año 2018 en la ciudad de San Lorenzo, Dpto. Central, sobre un total de 45 muestras procesadas, se demostró que 1 muestra (2%) de las mismas resultó positiva para *L. monocytogenes* (22).

En cuanto a *Salmonella spp.*, los resultados de los análisis demostraron que de las 24 (100%) muestras procesadas, ninguna de ellas resultó positiva para este microorganismo.

Al no determinarse la presencia de este microorganismo en los quesos se puede considerar que, los comercios estudiados toman los recaudos necesarios para evitar la contaminación cruzada de

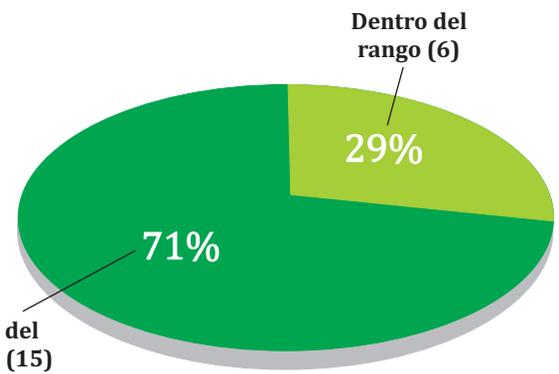
los alimentos, así también mantienen los estándares de higiene durante el procesamiento. La presencia de este microorganismo en queso Paraguay es debido principalmente a la contaminación cruzada por contacto con otros alimentos como huevos, carne de aves, etc., por manejos negligentes en el almacenamiento y conservación de los alimentos, donde estos son puestos en el mismo lugar y muchas veces en contacto; así también, al momento de la manipulación para su comercialización a los consumidores, los elementos cortantes utilizados para carnes y para el queso Paraguay son los mismos, y estos ni siquiera son lavados con agua para su uso entre productos.

En referencia a *Salmonella spp.*, los resultados de esta investigación difieren con un trabajo realizado en el año 2013, en la ciudad de San Lorenzo, Dpto. Central, donde se tomaron 20 muestras de queso Paraguay; donde se encontró que 2 (10%) de las muestras eran positivas para *Salmonella spp.* (23).

En el mismo sentido, los resultados de esta investigación no coinciden con un estudio realizado en Colombia en el año 2016, en la ciudad de Barrancabermeja, Santander, donde sobre 35 muestras de queso campesino procesadas, 4(11%) fueron positivas para *Salmonella spp.* (21).

Por el contrario, el presente estudio coincide con una investigación realizada en el año 2017 en la ciudad de Villa Halles, Dpto. de Pte. Hayes, donde sobre 25 muestras analizadas, todas resultaron negativas a *Salmonella spp.* (24).

En el Gráfico 1 se observan los resultados de los análisis para el recuento de coliformes, los mismos demostraron que de las 24 (100%) muestras analizadas, 21 (87%) resultaron positivas para este grupo de microorganismos, de estas, 15(71%) muestras (62% del total) presentaron un recuento de coliformes entre 3.10⁴ UFC/g y 4.10⁶ UFC/g, valores que sobrepasan lo permitido por la norma paraguaya NP 25 053 11, mientras que, 6(29%) muestras (25% del total) presentaron el recuento de coliformes dentro del límite establecido por la mencionada norma (10⁴ UFC/g), cabe destacar en este último punto que, 3 muestras (12% del total) no presentaron crecimiento de coliformes a pesar de que se realizaron varias repeticiones de las pruebas en dichas muestras.



* Fuera del rango permitido: entre 3.10⁴UFC/g y 4.10⁶UFC/g
 * Dentro del rango permitido: menor o igual a 1.10⁴UFC/g

Gráfico 1. Porcentaje de muestras positivas a coliformes, dentro y fuera del rango permitido por la norma NP 25 053 11 en queso Paraguay - Departamento de Pte. Hayes, año 2019.

La presencia de estos microorganismos en los quesos se podría deber a que, los comercios muestreados no toman los recaudos necesarios para mantener la higiene de los alimentos. La contaminación del queso Paraguay, evidenciada en la presente investigación, puede ser atribuida a la falta de higiene en los procesos de elaboración, ya que la mayoría de estos quesos son producidos de manera artesanal sin tener en cuenta medidas de control básicas, así también, durante el almacenamiento y comercialización. La contaminación puede darse debido a la falta de higiene de los comercios donde los quesos están expuestos a la contaminación ambiental, sin protección adecuada, muchas veces sin la correcta refrigeración, del mismo modo la higiene de las personas que expenden el producto, quienes en ningún caso usan guantes o se lavan las manos antes de manipular el queso.

Con respecto al recuento de coliformes, este estudio es similar a una investigación realizada en el año 2014, en la ciudad de Luque, donde se analizaron 55 muestras de queso Paraguay, el análisis determinó que el 100% de las muestras fueron positivas para coliformes, 22 (40%) de ellas dentro del rango permitido por la norma NP 25 053 11 y 33 (60%) fuera del rango establecido por la misma (25).

Así también, el presente estudio coincide con un trabajo realizado en el año 2018 en la ciudad de Limpio, Dpto. Central, sobre un total de 50 muestras de queso Paraguay analizadas; se demostró que el 100% de las muestras se encontraban contaminadas por coliformes, 12 muestras (24%) dentro del rango permitido por la norma, mientras que 38 (76%) fuera del rango permitido por la misma (26).

En cambio, difiere con una investigación realizada en el año 2017 en la ciudad de Asunción, Capital, donde sobre un total de 10 muestras, el 100% de las mismas tuvieron el recuento de coliformes dentro del rango establecido por la norma paraguaya NP 25 053 11, y de estas, 5 muestras (50%) no presentaron crecimiento de coliformes en absoluto (27).

En el Gráfico 2 se observan los resultados de los análisis para la identificación de *Escherichia coli*, los mismos demuestran que de las 24 muestras procesadas (100%), 9 (37%) de ellas resultaron positivas para este microorganismo, mientras que 15 (63%) dieron un resultado negativo.

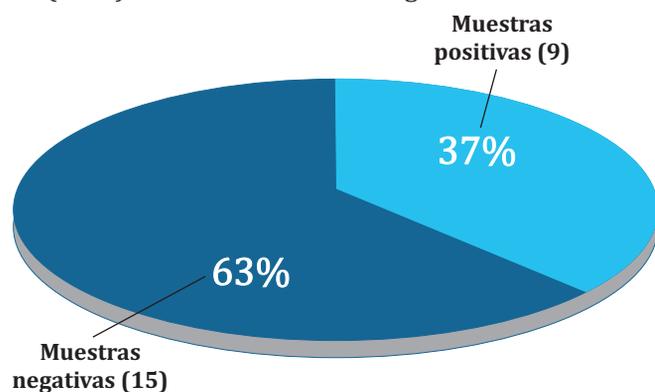


Gráfico 2. Porcentaje de muestras positivas y negativas a *Escherichia coli* en queso Paraguay. Departamento de Pte. Hayes, año 2019.

Teniendo en cuenta los resultados del presente estudio; el porcentaje de muestras positivas para *E. coli* podría deberse a las mismas razones expuestas para el recuento de coliformes mencionado anteriormente. Si esta bacteria se encuentra en un alimento, ello indicaría que ha tenido lugar una contaminación de origen fecal y que, consiguientemente, existe el riesgo de que hayan llegado al alimento en cuestión microorganismos patógenos de procedencia entérica.

En cuanto al análisis de las muestras para la determinación de *Escherichia coli*, esta investigación coincide con un estudio similar realizado en el año 2014 en el cual, sobre 45 muestras tomadas en la ciudad de Luque, Dpto. Central, se determinó la presencia de *E. coli* en 15 (33%) de ellas (28).

Por otra parte, no coincide con un estudio realizado en 2017 en la ciudad de Asunción, que sobre 15 muestras de queso Paraguay procesadas, estableció la presencia de *E. coli* en 10 (67%) de las mismas (29).

CONCLUSIÓN.

Teniendo en cuenta los resultados de este estudio se recomienda que; primero, las autoridades competentes realicen campañas de concienciación sobre buenas prácticas de manufactura, HACCP y BPH a los productores artesanales de queso Paraguay, así también, concienciar a los comerciantes y consumidores sobre el peligro de las ETA, sus formas de prevención, la importancia de la higiene y el mantenimiento de la cadena de frío para la comercialización y consumo de productos alimenticios como el queso Paraguay.

Diversos estudios realizados han tenido resultados similares a esta investigación, en los mismos también se realizan las mismas observaciones acerca de la importancia de la higiene en los procesos de elaboración del queso, destacando especialmente la pasteurización de la leche destinada a la fabricación del mismo, así también las condiciones de conservación, exposición y venta en los comercios que expenden este alimento los cuales son factores que inciden en la inocuidad del queso.

Por otra parte, se aconseja para estudios posteriores, ampliar el tamaño de la muestra, así también, agregar al estudio la determinación de otros microorganismos como *Staphylococcus coagulasa* positivo.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Magariños H. Producción higiénica de la leche cruda: guía para la pequeña y mediana industria. Guatemala: Producción y Servicios; 2000.
2. Spreer E. Lactología industrial. 2ª ed. Zaragoza: Acribia; 1991.
3. Instituto Nacional de Tecnología, Normalización y Metrología, Paraguay. Norma Paraguaya NP 25 053 11: queso Paraguay: requisitos Generales. Asunción: INTN; 2011.
4. Blaker G, Longrée K. Técnicas sanitarias en el manejo de los alimentos. México DF: Pax-México; 1972.
5. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura / Organización Mundial de la Salud. Codex Alimentarius: leche y productos lácteos. (Internet). 2ª ed. Roma: FAO/OMS; 2011. (Citado el 17 de setiembre de 2018). Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i2085s.pdf>.
6. Rodríguez-Auad J. Panorama de la infección por Listeria

- monocytogenes. *Revista Chilena de Infectología*. (Internet). 2018. (Citado el 17 de mayo de 2019). 35(6). Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182018000600649.
7. Carrascal A, Castaño M, Cortes M, Correa D, Olivares M, Pérez T, Suárez M. Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en queso fresco en Colombia. (Internet). Bogotá: Instituto Nacional de Salud; 2011. (Citado el 24 de febrero 2019). Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-listeria-en-lpc.pdf>.
8. Betancor L, Yim L. *Salmonella* y salmonelosis. (Internet). Montevideo: Facultad de Medicina, UdelaR; 2012. (Citado el 15 de marzo 2019). Disponible en: http://higiene1.higiene.edu.uy/DByV/Salmonella_y_salmonelosis.pdf.
9. Vidal J, Canizález-Román A, Gutiérrez-Jiménez J, Navarro-García F. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. *Salud Publica de Mexico*. (Internet). 2007. (Citado el 15 de noviembre de 2020). 49(5): 376-386. Disponible en: <https://scielosp.org/article/spm/2007.v49n5/376-386/es/>.
10. Fernández N, Ramos P. Manual de vigilancia de enfermedades transmitidas por los alimentos. 2ª ed. Asunción: MSPyBS/Municipalidad de Asunción; 2003.
11. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Paraguay. Dirección General de Vigilancia de la Salud. Boletín epidemiológico: SE01 a la SE50. (Internet). Asunción: MSPyBS; 2018. (Citado el 1 de junio de 2019). Disponible en: http://vigisalud.gov.py/webdgv/files/boletines/SE50_2018Boletin.pdf.
12. International Commission on Microbiological Specifications for foods. Microorganismos de los alimentos 6: ecología microbiana de los productos alimentarios. Zaragoza: Acribia; 2001.
13. Johnson E, Nelson J, Johnson M. Microbiological Safety of Cheese Made from Heat-Treated Milk, Part III. Technology, Discussion, Recommendations, Bibliography. *Journal of Food Protection*. (Internet). 1990. (Citado el 17 de setiembre de 2019); 53(7): 610-623. Disponible en: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/53/7/610/166635/Microbiological-Safety-of-Cheese-Made-from>.
14. Callejo R, Prieto M, Martínez C, Aguerre L, Rocca F, Martínez G. Manual de procedimientos: aislamiento, identificación y caracterización de *Listeria monocytogenes*. (Internet). Argentina: A.N.L.I.S.; 2008. (Citado el 7 de abril de 2019). Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/263927803_Manual_de_Procedimientos_Listeria_monocytogenes.
15. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Análisis microbiológicos de los alimentos: metodología analítica oficial. (Internet). Argentina: ANMAT/ReNaLOA; 2011. (Citado el 10 de mayo de 2019). Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/renaloe/docs/Analisis_microbiologico_de_los_alimentos_Vol_I.pdf.
16. Macfaddin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. 3ª ed. Argentina: Panamericana; 2004.
17. Roberts D, Hooper W, Greenwood M. Microbiología práctica de los alimentos: métodos para el examen de microorganismos de los alimentos de interés para la salud pública. Zaragoza: Acribia; 2000.
18. Ellner R. Preguntas y respuestas sobre la microbiología de la leche y los productos lácteos. Madrid: Diaz de Santos; 2000.
19. Zacarias M. Estudio sobre la presencia de *Listeria* spp. en quesos frescos en el mercado de Abasto de la ciudad de Asunción. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCV, UNA; 2010.
20. Silguero A. Evaluación microbiológica del queso Paraguay comercializado en el Mercado de Abasto de Asunción. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCQ, UNA; 2013.
21. Castro A, Porras A, Bermúdez S, Velasco N, Osorio M. Detección de *Listeria* spp y *Salmonella* spp. en queso y su relación con las características fisicoquímicas. *Revista politécnica*. (Internet). 2016. (Citado el 20 de noviembre de 2019). 12(23): 91-98. Disponible en: <https://revistas.elpoli.edu.co/index.php/pol/article/view/903/1498>.
22. Fruet C. Determinación de *Listeria monocytogenes* en queso Paraguay, comercializado en el mercado municipal de San Lorenzo, Año 2017. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCV, UNA; 2018.
23. Gómez N. Presencia e identificación de *Salmonella* spp. en queso tipo Paraguay comercializados en el mercado municipal de la ciudad de San Lorenzo, Departamento Central. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCV, UNA; 2013.
24. Coronel M. Determinación de *Salmonella* spp. en queso Paraguay comercializado en despensas ubicadas en la ciudad de Villa Hayes, Departamento de Presidente Hayes. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCV, UNA; 2017.
25. Medina L. Determinación de la carga de coliformes en queso tipo Paraguay, comercializado en el mercado municipal de la ciudad de Luque según Norma Paraguaya. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCV, UNA; 2014.

26. Ramírez R. Recuento de coliformes en queso Paraguay comercializado en el mercado de Abasto Norte de la ciudad de Limpio según la norma paraguaya NP 25 053 11. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCV, UNA; 2018.

27. Díaz H. Determinación de bacterias coliformes en queso Paraguay elaborado con leche pasteurizada comercializada en Asunción. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCV, UNA; 2017.

28. Campos M. Cuantificación de microorganismos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* spp.) en quesos tipo Paraguay comercializados en diferentes puntos de venta al consumidor en la ciudad de Luque. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCV, UNA; 2014.

29. Shimakura A. Cuantificación de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en queso Paraguay comercializado en la ciudad de Asunción. (Tesis de Grado). San Lorenzo, Paraguay: FCV, UNA; 2017.