



**Ciencia Latina**  
Internacional

Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.  
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), julio-agosto 2024,  
Volumen 8, Número 4.

[https://doi.org/10.37811/cl\\_rem.v8i4](https://doi.org/10.37811/cl_rem.v8i4)

**ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO Y MOLECULAR  
DE VIRULENCIA Y RESISTENCIA DE  
STAPHYLOCOCCUS AUREUS IDENTIFICADOS  
EN QUESO FRESCO NO MADURADO**

**MICROBIOLOGICAL AND MOLECULAR ANALYSIS OF  
VIRULENCE AND RESISTANCE OF STAPHYLOCOCCUS  
AUREUS IDENTIFIED IN UNRIPENED FRESH CHEESE**

**Priscila Alejandra Pineda Palacios**  
Universidad Católica de Cuenca – Ecuador

**Carlos Fernando Andrade Tacuri**  
Universidad Católica de Cuenca - Ecuador

**Jonathan Gerardo Ortiz Tejedor**  
Universidad Católica de Cuenca – Ecuador

**Paola Patricia Orellana Bravo**  
Universidad Católica de Cuenca - Ecuador

DOI: [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v8i4.12354](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i4.12354)

## **Análisis Microbiológico y Molecular de Virulencia y Resistencia de *Staphylococcus Aureus* Identificados en Queso Fresco no Madurado**

**Priscila Alejandra Pineda Palacios<sup>1</sup>**[priscilaalejandra91@gmail.com](mailto:priscilaalejandra91@gmail.com)<https://orcid.org/0000-0003-4555-2506>Universidad Católica de Cuenca  
Cuenca-Ecuador**Carlos Fernando Andrade Tacuri**[candradet@ucacue.edu.ec](mailto:candradet@ucacue.edu.ec)<https://orcid.org/0000-0003-3983-1314>Universidad Católica de Cuenca  
Cuenca-Ecuador**Jonathan Gerardo Ortiz Tejedor**[jonnathan.ortiz@ucacue.edu.ec](mailto:jonnathan.ortiz@ucacue.edu.ec)<https://orcid.org/0000-0001-6770-2144>Universidad Católica de Cuenca  
Cuenca-Ecuador**Paola Patricia Orellana Bravo**[porellana@ucacue.edu.ec](mailto:porellana@ucacue.edu.ec)<https://orcid.org/0000-0001-6276-0521>Universidad Católica de Cuenca  
Cuenca-Ecuador

### **RESUMEN**

Introducción: *Staphylococcus aureus* puede estar presente en derivados lácteos y provocar diferentes cuadros clínicos. Su enzima coagulasa la diferencia de otras especies y se utiliza para su identificación microbiológica. Es uno de los principales patógenos involucrados en la contaminación de alimentos elaborados sin las debidas medidas higienicas, como es en el caso de la fabricación de quesos frescos con leche cruda. Objetivo: Identificar *Staphylococcus aureus* y sus factores de virulencia, mediante procedimientos microbiológicos y moleculares, en muestras de queso fresco no madurado. Metodología: Se realizó un estudio de campo, descriptivo, de corte transversal, con un muestreo no probabilístico por conveniencia, obteniendo 50 muestras en los 5 mercados más representativos de la ciudad de Cuenca, las cuales se transportaron para su procesamiento en el Laboratorio de Biología Molecular y Genética del Centro de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología (CIITT) de la Universidad Católica de Cuenca. Resultados: Se aislaron 4 cepas de *S. aureus* (8%), en muestras de 3 mercados. Tres de las cepas presentaron resistencia a penicilina y sensibilidad para clindamicina, eritromicina, cefoxitina y una de ellas sensible para penicilina, clindamicina, eritromicina y cefoxitina. Conclusión: *S. aureus* se identificó en un rango relativamente bajo de muestras, de las cuales casi todas presentaron genes de hemolisinas, en ninguna se identificó genes de enterotoxinas, y se encontró resistencia únicamente a penicilina, por lo que podríamos deducir que las cepas identificadas son poco virulentas y de fácil tratamiento.

**Palabras clave:** staphylococcus aureus, queso, virulencia, enzima, coagulasa

---

<sup>1</sup> Autor Principal

Correspondencia: [priscilaalejandra91@gmail.com](mailto:priscilaalejandra91@gmail.com)

# Microbiological and Molecular Analysis of Virulence and Resistance of Staphylococcus Aureus Identified in Unripened Fresh Cheese

## ABSTRACT

**Introduction:** Staphylococcus aureus can be present in dairy products and cause different clinical conditions. Its coagulase enzyme differentiates it from other species and is used for its microbiological identification. It is one of the main pathogens involved in the contamination of foods prepared without proper hygienic measures, as is the case with the manufacture of fresh cheeses with raw milk. **Objective:** Identify Staphylococcus aureus and its virulence factors, through microbiological and molecular procedures, in samples of unripened fresh cheese. **Methodology:** A descriptive, cross-sectional field study was carried out, with non-probabilistic convenience sampling, obtaining 50 samples in the 5 most representative markets of the city of Cuenca, which were transported for processing in the Biology Laboratory. Molecular and Genetics of the Center for Research, Innovation and Technology Transfer (CIITT) of the Catholic University of Cuenca. **Results:** 4 strains of S. aureus (8%) were isolated in samples from 3 markets. Three of the strains presented resistance to penicillin and sensitivity to clindamycin, erythromycin, ceftiofur and one of them was sensitive to penicillin, clindamycin, erythromycin and ceftiofur. **Conclusion:** S. aureus was identified in a relatively low range of samples, of which almost all had hemolysin genes, none of which had enterotoxin genes identified, and resistance was found only to penicillin, so we could deduce that the strains identified They are not very virulent and easy to treat.

**Keywords:** staphylococcus aureus, cheese, virulence, enzyme, coagulase

*Artículo recibido 10 junio 2024*

*Aceptado para publicación: 15 julio 2024*



## INTRODUCCIÓN

*Staphylococcus aureus*, se ha identificado como uno de los patógenos más significativos por su elevada capacidad para causar una gran variedad de infecciones(Orellana Bravo, 2021). Es un coco gram positivo que se encuentra con mucha regularidad en derivados lácteos. La diferencia con otras variedades de estafilococos, está en la producción de enzimas como: coagulasa, fosfatasa y desoxirribonucleasa(Rodas et al., 2016). Puede colonizar las mucosas y piel sin generar sintomatología alguna (portadores sanos). Este microorganismo se lo puede encontrar en: sepsis, endocarditis y neumonía necrotizante(Gajewska et al., 2022). Los factores de virulencia de *S. aureus*, facilitan entre otras cosas la generación de cuadros clínicos de diversa intensidad, generalmente relacionada con la eficacia del sistema inmunitario del hospedero y la capacidad del patógeno para eludirlo. Otra característica fundamental en la virulencia de *S. aureus*, es la capacidad que posee de formar biopelículas, esto dificulta la terapia antimicrobiana y contribuye a la generación de resistencia a los antibióticos(Pasachova Garzón et al., 2019). La identificación molecular de los genes *nuA* y *femB* se usa como prueba confirmatoria de la existencia de *Staphylococcus aureus*(Farfán et al., 2023). La variedad patogénica de *S. aureus* está vinculada con la capacidad que tiene de portar genes de resistencia, como son *mecA*, *mecC*, *blaZ*, *vanA*, etc(Sanmartín Orbe et al., 2021). *Staphylococcus aureus* es un patógeno ubicuo que se lo ha identificado como el tercer agente más importante de entre los aislados en los productos alimenticios(Eid et al., 2022). Consumir alimentos que posean toxinas producidas por *S. aureus*, puede produce intoxicación alimenticia aún sin la presencia física de la bacteria(da Silva et al., 2019). Este microorganismo, en el ser humano se halla formando parte de la microflora normal en la cavidad nasal, garganta, piel y membranas mucosas(Orellana Bravo, 2021). Se considera que la incidencia de *S. aureus* en quesos frescos no madurados, podría deberse al uso de leche cruda no pasteurizada, así como a malas condiciones de higiene durante el ordeño y el proceso de elaboración(Kayili & Sanlibaba, 2020). Como prevención se recomienda aplicar medidas higiénico-sanitarias para disminuir la contaminación del patógeno durante todo el proceso y así cuidar la salud del consumidor(Lucci et al., 2014). El queso es un derivado lácteo consumido en todo el mundo, está compuesto y elaborado por leche cruda aproximadamente el 90%, las probabilidades de contaminación desde el comienzo de su elaboración, hasta llevarlo a los diferentes sitios de comercio son muy altas.



Diversos factores como: la incorrecta higiene del personal encargado de la fabricación de quesos frescos, contratiempos durante los procedimientos térmicos empleados para la erradicación de microorganismos, utilización de utensilios no esterilizados, así como también el mal manejo de las condiciones de temperatura al momento de almacenar el producto obtenido, son algunas causantes de la contaminación del mismo (Ferrin Mendoza et al., 2020). Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), son producidas por consumo de productos alimenticios contaminados por bacterias. Entre los síntomas que producen estas intoxicaciones se pueden mencionar los siguientes: diarreas, dolores abdominales, vómitos, dolor de cabeza, fiebre, etc (Fernández et al., 2021). En la actualidad en la ciudad de Cuenca existen muchos lugares de abastecimiento de queso elaborado artesanalmente, de los cuales, se desconoce si los encargados de esta labor, la realizan con las medidas sanitarias necesarias, para evitar la contaminación de estos productos. El queso fresco no madurado es empleado como ingrediente principal para la preparación de una gran variedad de platillos, pues se considera que posee un alto valor nutricional (Ferrin Mendoza et al., 2020). El queso se produce de manera artesanal mediante la fermentación de la leche cruda, sus productores afirman que el empleo de las técnicas implementadas por ellos, sin el empleo de tecnología, le brindan una mejor textura, sabor y aroma al producto final (Merchán et al., 2019). Es necesario promover un buen control sanitario, que permita garantizar la manipulación adecuada de estos quesos, con el objetivo de prevenir posibles Enfermedades Transmitidas por Alimentos mediante su consumo. En base a lo expuesto, el propósito del presente estudio piloto es identificar la presencia de cepas de *Staphylococcus aureus* y sus factores de virulencia, mediante métodos microbiológicos y moleculares en muestras de queso fresco no madurado, expandido en los mercados más representativos de la ciudad de Cuenca, el cual tendrá un importante aporte para la comunidad e investigadores del área.

## **METODOLOGÍA**

**Tipo y diseño de investigación:** El estudio realizado fue de campo, descriptivo, de corte transversal, en el que se empleó un muestreo no probabilístico por conveniencia.

**Población y muestra:** De aproximadamente 12 mercados existentes en la ciudad de Cuenca, se tomó los 5 más representativos de acuerdo a su tamaño y cantidad de usuarios, de los cuales se obtuvieron 50 muestras de queso fresco no madurado en total (10 de cada uno). Se excluyeron las muestras que cuenten



con algún tipo de procesamiento adicional. Todas las muestras se tomaron de manera directa cumpliendo las normas de asepsia adecuadas, se colocaron dentro de fundas ziploc estériles, fueron transportadas al Laboratorio de Biología Molecular y Genética del Centro de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología (CIITT) de la Universidad Católica de Cuenca para su respectivo análisis.

### **Identificación microbiológica de *S. aureus***

#### **Toma y transporte de muestra**

Siguiendo las instrucciones que indica la norma NTE INEN 1529-2 “CONTROL MICROBIOLOGICO DE LOS ALIMENTOS TOMA, ENVIO Y PREPARACION DE MUESTRAS PARA EL ANALISIS MICROBIOLOGICO”.(Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), 1999)

#### **Análisis de las diferentes muestras**

Se realizo de acuerdo las instrucciones descritas en la norma NTE INEN 1529-14 “CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. RECuento EN PLACA DE SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN SUPERFICIE”.(Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN), 1998)

Luego de realizar la disolución de queso en el stomacher con (HEART INFUSION BROTH) se preparó diluciones 1/10,1/100,1/1000 respectivamente, se procedió a sembrar las muestras en Compact Dry XSA luego de esto identificamos las colonias que poseían características propias del microorganismo, se usó Agar Manitol Salado, se utilizó Tinción de Gram, pruebas de DNAsa, y Coagulasa.

### **Identificación molecular de *S. aureus***

#### **Extracción de ADN**

Para la extracción de ADN se tomaron con un asa estéril un grupo de colonias y colocamos en 1ml de agua destilada, homogenizamos mediante vortex y centrifugamos durante 5 minutos a 13000 rpm, eliminamos el sobrenadante y sobre el pellet colocamos 50 ul de solución de lisis (sodio dodecilsulfato al 1% en NaOH 0,25N). Procedimos a homogenizar y colocamos en un bloque térmico a 98 °C durante 15 minutos, agregamos 450 ul de agua libre de nucleasas, centrifugamos nuevamente 30 segundos a 3000 rpm y finalmente lo llevamos a congelación hasta que se realizó la PCR(Medina et al., 2021; Sanmartín Orbe et al., 2021).



Para la confirmación molecular de las cepas identificadas anteriormente mediante procedimientos microbiológicos, realizamos la amplificación de los genes *nucA* y *femB*, a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), según las condiciones detalladas en la **tabla 1**.

### Reacción en cadena de la polimerasa

Trabajamos con un volumen final correspondiente a 20 ul con:

- 10ul de Green go taq 2X (master mix)
- 1,5 ul de cada primer (forward y reverse)
- 5 ul de agua libre de nucleasas
- 2ul de ADN muestra

### Electroforesis Horizontal

Para la separación de los productos obtenidos mediante reacción en cadena de la polimerasa se realizó por medio de electroforesis horizontal en 50ml de gel de agarosa al 2%, con 3 ul de SYBR SAFE DNA gel stain,(Medina et al., 2021).

**Tabla 1.** Protocolo de amplificación de los genes, *nucA* y *femB*.

Amplicones	Secuencia de los primers 5'-3'	Condiciones para la corrida de la PCR
<i>nucA</i> (270 pb)	Forward: GCGATTGATGGTGATACGGTT Reverse: AGCCAAGCCTTGACGAACTAAAGC	Desnaturalización inicial 94°C x 5min, 10 ciclos de: 94°C X 40 seg, 68°C X 40 seg, 72°C X 1min, seguido de 25 ciclos de: 94°C X 1min, 58°C X 1min, 72°C X 2min, y una extensión final de 10 min a 72°C.
<i>femB</i> (651 pb)	Forward: TTACAGAGTAACTGTTACC Reverse: ATACAAATCCAGCACGCTCT	Desnaturalización inicial: 94 °C X 15 min, seguido de 35 ciclos de: 94°C X 45 seg, 50°C X 45 seg y 72°C X 60 seg, con una extensión final de 72°C X 5 min.

Fuente: Sanmartín Orbe et al. (Sanmartín Orbe et al., 2021)





**Tabla 2.** Protocolo de amplificación de los genes, *mecA* y *blaZ*

Producto amplificado (pb)	Secuencia del iniciador 5'-3'	Condición de amplificación
<i>blaZ</i> (674)	Forward: GTTGCGAACTCTTGAATAGG Reverse: GGAGAATAAGCAACTATATCATC	94 °C X 5 min 34 ciclos de: 94°C X 1 min, 54°C X 1 min, 72°C X 1 min. 72°C X10min (elongación final)
<i>mecA</i> (310)	Forward: GTAGAAATGACTGAACGTCCGATGA Reverse: CCAATTCCACATTGTTTCGGTCTAA	94 °C X 5 min 30 ciclos de: 94°C X 1 min, 62°C X 30 seg, 72°C X 35 seg. 72°C X 10 min (elongación final)

Fuente: Andrade Tacuri C, Orellana Bravo P.(Andrade & Orellana, 2019)

**Tabla 3.** Protocolo de amplificación de las hemolisinas *hla*, *hlb*, *hld*.

Genes	Primers 5'-3'	Condiciones de Amplificación
<i>hla</i> 209pb	Forward: CTGATTACTATCCAAGAAATTCGATTG Reverse: CTTCCAGCCTACTTTTTTATCAGT	Desnaturalización: 5 min. a 95°C. 30 ciclos de: 94°C X 1 min,
<i>hlb</i> 309pb	Forward: GTGCACTTACTGACAATAGTGC Reverse: GTTGATGAGTAGCTACCTTCAGT	55°C X 1 min para alineamiento, 72°C X 1 min para extensión,
<i>hld</i> 111pb	Forward: AAGAATTTTTATCTTAATTAAGGAAGGAGTG Reverse: TTAGTGAATTTGTTCACTGTGTCGA	72°C X 10 min para elongación final.

Fuente: Villalta Calderón DI, Andrade Tacuri CF, Orellana Bravo PP(Villalta-Calderón et al., 2021)

### Identificación molecular de genes de virulencia

Se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa para identificar los genes *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, para lo cual se utilizó los primer que se encuentran detallados a continuación:

**Tabla 3.-** Genes, primers y amplicones de identificación de enterotoxinas

Genes que codifican para enterotoxinas	Primers 5'-3'	Condiciones de Amplificación
<i>sea</i> (PCR) 560pb	F: GAAAAAAGTCTGAATTGCAGGGAACA R: CAAATAAATCGTAATTAACCGAAGGTTTC	Desnaturalización inicial: 94° C X 5 min.
<i>seb</i> (PCR) 404pb	F: ATTCTATTAAGGACACTAAGTTAGGGA R: ATCCCGTTTCATAAGGCGAGT	Anillamiento: 30 ciclos de:
<i>sec</i> (PCR) 297pb	F: GTAAAGTTACAGGTGGCAAACTTG R: CATATCATACCAAAAAGTATTGCCGT	30 seg a 94° C, minuto a 55°C,
<i>sed</i> (PCR) 492pb	F:GAATTAAGTAGTACCGCGCTAAATAATATG R: GCTGTATTTTTCTCCGAGAGT	1 minuto a 72°C. Extensión: 10 min a 72° C.

Fuente: Atancuri Barreiro E, Andrade Tacuri C, Ortiz Tejedor J (Atancuri Barreiro et al., 2021)





**Tabla 4.-Antibiograma de cepas positivas para *S. aureus***

	Penicilina	Eritromicina	Cefoxitina	Clindamicina
Muestra 3	Sensible	Sensible	Sensible	Sensible
Muestra 8	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
Muestra 9	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible
Muestra 12	Resistente	Sensible	Sensible	Sensible

### **Determinación de la sensibilidad a antibióticos en cepas de *S. aureus***

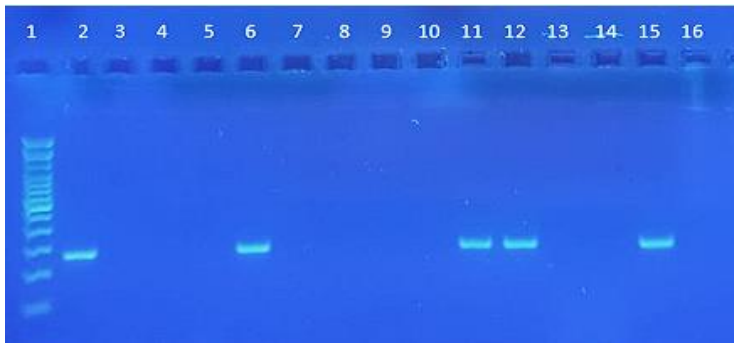
Para determinar la resistencia a los antibióticos se utilizó la técnica Kirby-Baüer o disco difusión en agar Mueller Hinton (Difco-EEUU), de las muestras que dieron resultado positivo para DNAsa se realizó el pase a un nuevo agar manitol , luego de observar el crecimiento se procedió al antibiograma; con un hisopo estéril se tomó las colonias y se rompieron dentro del tubo con solución salina hasta obtener una mezcla densa, se tomó otro hisopo y tomamos de la mezcla de solución salina con la colonia de *S. aureus* y se procedió a sembrar en el agar Mueller Hinton, a manera de cruz ,en forma oblicua y en sentido antihorario, luego colocamos los discos con los siguientes antibióticos: penicilina, clindamicina, eritromicina, cefoxitina,

### **RESULTADOS**

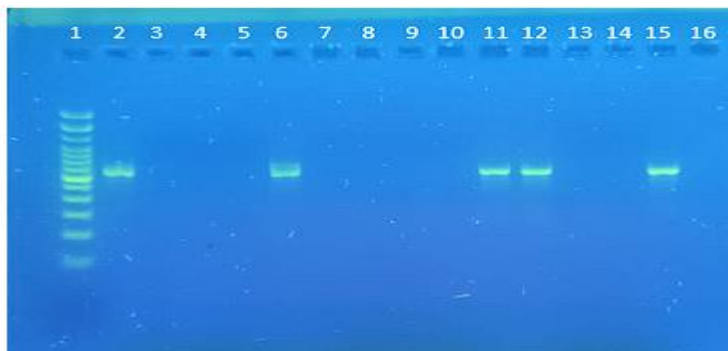
Se estudiaron 50 muestras de queso fresco no madurado, de la totalidad, 40 muestras dieron crecimiento en el sistema Compact Dry, de las cuales 25 viraron el agar manitol salado, 12 de las cuales resultaron cocos Gram positivo. Las 12 muestras dieron positivo para la prueba de coagulasa, pero solo 4 muestras resultaron positivas para la prueba de la DNAsa. Estas muestras fueron procesadas mediante PCR y las 4 positivas para DNAsa también presentaron los genes *nuca* (270 pb), y *femB* (651 pb). De las 4 muestras identificadas como *S. aureus*, 2 muestras corresponden al mercado 10 de agosto, 1 al mercado 12 de abril y 1 al de la feria Libre. Se realizó la identificación de las hemolisinas *hla*, *hly* y *hld*. para las cuales dieron positivo las mismas muestras descritas anteriormente. Posteriormente se identificó los genes *mecA* que dieron negativo para las 4 muestras y *blaZ* positivo para 3 de ellas. A las cuatro cepas que fueron aisladas en los diferentes quesos se realizó el antibiograma, con el siguiente resultado: la muestra N° 12 presenta resistencia a penicilina y sensibilidad para clindamicina, eritromicina,



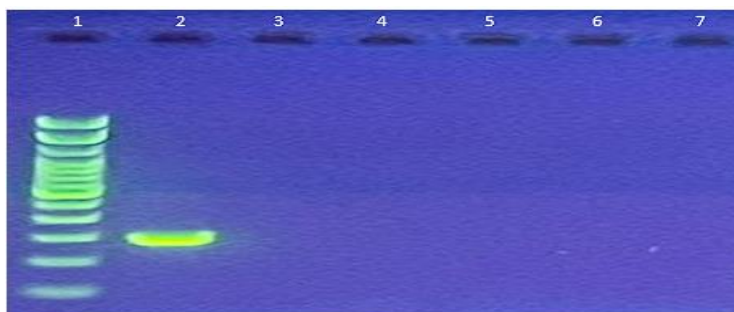
cefoxitina; muestra N° 3 refleja sensibilidad para penicilina, clindamicina, eritromicina, cefoxitina; muestra N° 9 es resistente a la penicilina y sensible para eritromicina clindamicina y cefoxitina, y muestra N° 8 manifiesta resistencia a penicilina y sensibilidad para eritromicina, clindamicina y cefoxitina.



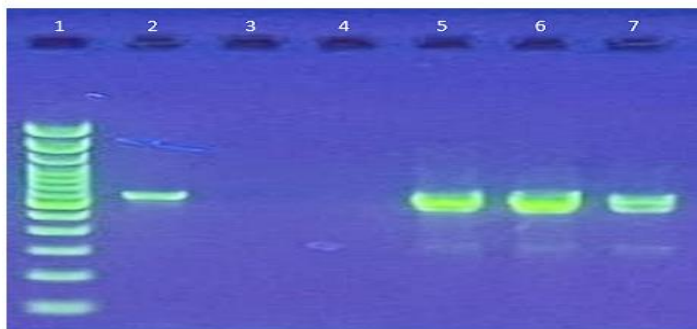
**Imagen 1.** Identificación del gen *nucA*. Carril 1: escalera alélica, carril 2: control positivo, carril 3: control negativo, carriles 6,11,12 y 15 corresponden a cepas de *S. aureus* positivas para el gen *nucA*. Los carriles 4,5,7,8,9,10,13,14 y 16 negativos para el gen *nucA*



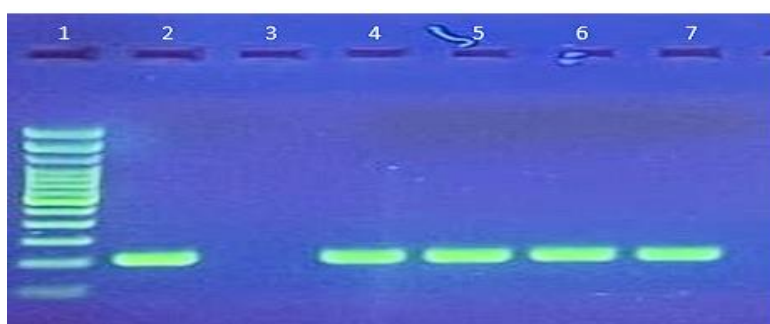
**Imagen 2.** Identificación del gen *femB*. Carril 1: escalera alélica, carril 2: control positivo, carril 3: control negativo, carriles 6,11,12 y 15 corresponden a cepas de *S. aureus* positivas para el gen *femB*. Los carriles 4,5,7,8,9,10,13,14 y 16, negativos para el gen *femB*



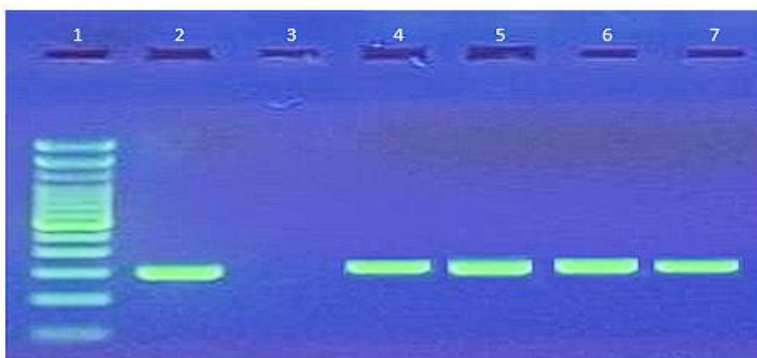
**Imagen 3.** Identificación del gen *mecA* (310 pb). Carril 1: escalera alélica, carril 2: control positivo, carril 3: control negativo, carriles 4,5,6, y 7 corresponden a cepas de *S. aureus* negativas para el gen *mecA*.



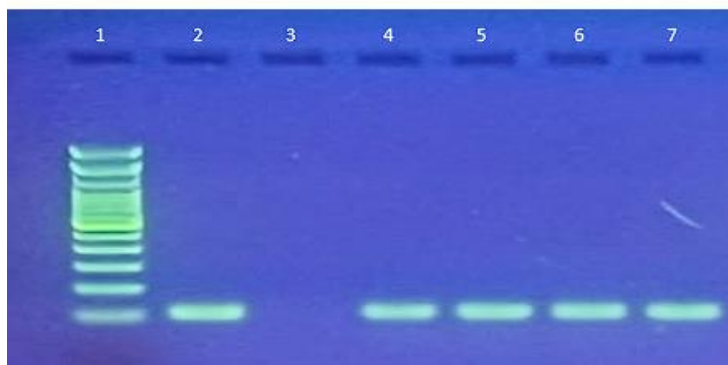
**Imagen: 4.** Identificación del gen *blaZ* (674pb) Carril 1: escalera alélica, carril 2: control positivo, carril 3: control negativo, carril 4: cepa de *S. aureus* negativa para el gen *blaZ*, carriles 5,6 y 7 corresponden a cepas de *S. aureus* positivas para el gen *blaZ*.



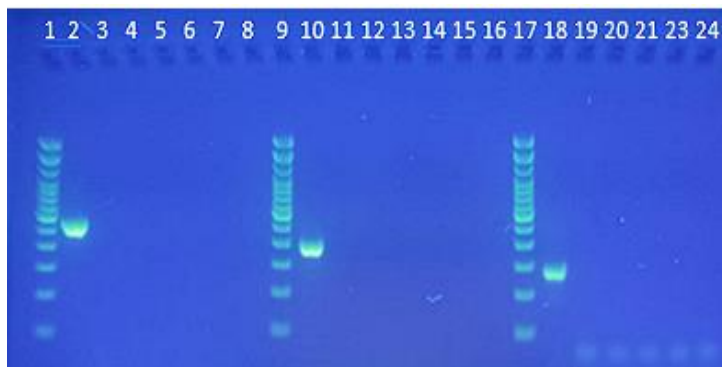
**Imagen 5.** Identificación del gen *hla*. Carril 1: escalera alélica, carril 2: control positivo, carril 3: control negativo, carriles 4,5, 6 y 7 corresponden a cepas de *S. aureus* positivas para el gen *hla*.



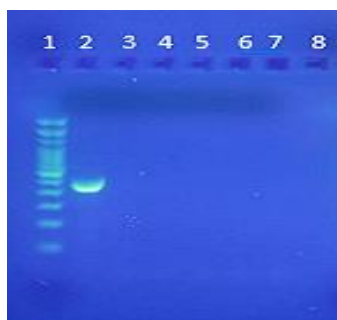
**Imagen 6.** Identificación del gen *hlb*. Carril 1: escalera alélica, carril 2: control positivo, carril 3: control negativo, carriles 4,5, 6 y 7 corresponden a cepas de *S. aureus* positivas para el gen *hlb*.



**Imagen 7.** Identificación del gen *hld* por PCR. Carril 1: escalera alélica carril C2: control positivo, carril 3: control negativo, carriles 4,5, 6 y 7 corresponden a cepas de *S. aureus* positivas para el gen *hld*.



**Imagen 9.** Identificación del gen *sea*, *seb*, *sec*. Carril 1,9,17: escalera alélica, carril 2,10,18: control positivo, carril 3,11,19: controles negativos, para los genes *sea*, *seb*, *sec*, respectivamente. Ninguna de las cepas dió positivo para ninguno de los genes mencionados.



**Imagen 10.** Identificación del gen *sed*. Carril 1: escalera alélica, carril 2: control positivo, carril 3: control negativo, carriles 4,5,6,7 y 8 corresponden a cepas de *S. aureus* negativas para el gen *sed*.

## DISCUSIÓN

*S. aureus* se encuentra en la piel y mucosa de los seres humanos, es capaz de contaminar los alimentos presencialmente o mediante la liberación de sus toxinas. La contaminación puede deberse en primer lugar, a la manipulación del producto sin tomar las medidas higiénicas necesarias por parte del personal que podría incluir portadores sanos de este microorganismo, así como también el uso de materia prima contaminada con el patógeno (Villalta-Calderón et al., 2021). En esta investigación se analizó la presencia de esta bacteria en 50 muestras de queso, obtenidas de los mercados más representativos de la ciudad de Cuenca-Ecuador identificándose *S. aureus* en un total de 4 muestras. Los resultados de este estudio son menores a otros estudios, como el de Ferrín Mendoza et al (2020) (Ferrin Mendoza et al., 2020) que estudiaron 51 muestras del mercado municipal de Junín en la provincia de Manabí; Rodas et al (2016) (Rodas et al., 2016), con 18 muestras obtenidas en el cantón milagro, provincia del Guayas, en ambos casos identificaron *S. aureus* en el 100% de las muestras recolectadas. Por otra, Gajewska et al. (Gajewska et al., 2022) en Polonia en el 2022, en el proceso de elaboración de quesos a base de leche

cruda, demostró la presencia de *S. aureus* con un total de 18 muestras en las cuales se encontró que el 55,55% (10 muestras) poseen la bacteria, se estableció también, a través del antibiograma, que el 100% de las muestras resultaron resistentes a la penicilina, lo cual coincidió con los resultados de la amplificación del gen *blaZ*. En nuestro estudio 3 de las 4 muestras aisladas resultaron resistentes a la penicilina, coincidiendo con los resultados de amplificación del gen *blaZ*. Resultados similares al nuestro encontramos en un estudio realizado por: Kayli y Sanlibaba(2020)(Kayili & Sanlibaba, 2020), en Ankara-Turquía, en el cual identificaron 85 (21,96%) aislamientos de *S. aureus* de un universo total de 387 muestras de queso, en estos aislamientos no se encontró presencia de enterotoxinas, al igual que en nuestras muestras. En un estudio realizado por Farfán et al (Farfán et al., 2023), encontramos resultados similares al tratarse del gen *mecA* pues ninguna de las muestras analizadas de queso fresco presentaron dicho gen.

## CONCLUSIONES

En conclusión, según los resultados obtenidos, la incidencia de *Staphylococcus aureus* en los quesos frescos no madurados que se expenden en los mercados de Cuenca, es baja, pues se lo identificó en 4 muestras de las 50 obtenidas en este estudio piloto.

Es importante casi todas presentaron genes de hemolisinas y en ninguna de ellas se pudo identificar enterotoxinas, con esto podemos deducir que poseen poca virulencia y son de fácil tratamiento. También se encontró al realizar las pruebas de susceptibilidad, resistencia a la penicilina resultante de 3 cepas positivas, lo que nos llevaría al uso de otros antibióticos para tratar enfermedades provocadas por esta bacteria. Se puede concluir que debido a las escasas medidas higiénico-sanitarias de manejo del alimento al momento de su expendio sería una de las causas de la contaminación, así como la contaminación cruzada debido al uso de utensilios no desinfectados y únicos para su uso. Esto significa un grave problema que atenta contra la salud de la población consumidora. Se recomienda prevenir el contagio de este microorganismo manteniendo una higiene apropiada. Con este plan piloto podemos señalar que se hace necesario realizar estudios con un mayor número de muestras para asegurar índices estadísticos representativos.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Andrade, C., & Orellana, P. (2019). Frecuencia y susceptibilidad a penicilina y meticilina de aislamientos ambientales de *Staphylococcus aureus* en un hospital de Cuenca. *Kasmera*, 47(2), 123-130. <https://www.redalyc.org/journal/3730/373063318007/html/>
- Atancuri Barreiro, E., Andrade Tacuri, C., & Ortiz Tejedor, J. (2021). Genes de Enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* en superficies nosocomiales. *REDIELUZ*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6800306>
- da Silva, A. C., Rodrigues, M. X., & Silva, N. C. C. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in food and the prevalence in Brazil: A review. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(1), 347-356. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00168-1>
- Eid, H. M., El Mahallawy, H. S., Mohammed, S. R., Mohammed, N. Y., & Eidaros, N. H. (2022). Multidrug-resistant and enterotoxigenic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk of cows at small-scale production units. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 9(1), 113-121. <https://doi.org/10.5455/javar.2022.i575>
- Farfán, K., Romero, G., & Ortiz, J. (2023). Susceptibilidad antimicrobiana y enterotoxinas en *Staphylococcus aureus* aislado de queso fresco expandido en mercados municipales de la ciudad de Cuenca – Ecuador. *Anatomía Digital*, 6(4), Article 4. <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i4.2704>
- Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chavez, V., Montoya, H., Varela, I., Ruiz, J., Lagos, S., & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284-2298. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v5i2.433](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i2.433)
- Ferrin Mendoza, Y., Guevara Muñoz, J., Andrade Lozano, J., Macías Andrade, E., & López, M. (2020). EVALUCIÓN DE LA PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* EN QUESO FRESCO ARTESANAL DEL MERCADO MUNICIPAL DEL CANTÓN JUNÍN DE LA PROVINCIA DE MANABÍ. *Alimentos Hoy*, 28(49), 41. <https://alimentos hoy.acta.org.co/index.php/hoy/article/view/553>





- Gajewska, J., Chajęcka-Wierzchowska, W., & Zadernowska, A. (2022). Occurrence and Characteristics of *Staphylococcus aureus* Strains along the Production Chain of Raw Milk Cheeses in Poland. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(19), 6569. <https://doi.org/10.3390/molecules27196569>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (1998). *NTE INEN 1529-14: Control microbiológico de los alimentos. Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie*. <http://archive.org/details/ec.nte.1529.14.1998>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (1999). *NTE INEN 1529-2: Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico*. <http://archive.org/details/ec.nte.1529.2.1999>
- Kayili, E., & Sanlibaba, P. (2020). Prevalence, characterization and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from traditional cheeses in Turkey. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 1441-1451. <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1814323>
- Lucci, E., Benavides, C., Spencer, L., Paz, A., & Maldonado, R. (2014). Crecimiento de *Staphylococcus aureus* y producción de enterotoxinas durante la manufactura y almacenamiento de queso “telita”. *Revista Científica*, XXIV(3), 205-212. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95931389002>
- Medina, M. S., Andrade, C., Orellana, P., & Sarmiento, P. (2021). Detección de *Staphylococcus aureus* en pantallas de celulares de estudiantes de Odontología mediante PCR. *Kasmera*, 49(2), Article 2. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5549583>
- Merchán, N., Zurymar T, S., Niño, L., & Urbano, E. (2019). Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas. *Revista chilena de nutrición*, 46(3), 288-294. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182019000300288>
- Orellana Bravo, P. (2021). *Staphylococcus aureus* aislados en consultorios odontológicos. Genes de resistencia y virulencia. *REDIELUZ*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6812286>
- Pasachova Garzón, J., Ramirez Martínez, S., & Molina, L. M. (2019). *Staphylococcus aureus*: Generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *NOVA*, 17(32), Article 32. <https://doi.org/10.25058/24629448.3631>





- Rodas, K., Pazmiño, B., Rodas, E., Cagua, L., Nuñez, P., Coello, R., Rodas, J., Rodas, A., Pazmiño, A., Pazmiño, E., & Ayol, L. (2016). Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos comercializados en la Ciudad de Milagro, Octubre –Noviembre 2013. *Cumbres*, 2(2), Article 2. <https://doi.org/10.48190/cumbres.v2n2a3>
- Sanmartín Orbe, M. L., Andrade Tacuri, C. F., & Orellana Bravo, P. P. (2021). Susceptibilidad de cepas de *S. aureus* aisladas en superficies hospitalarias. *Revista Vive*, 4(11), Article 11. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i11.98>
- Villalta-Calderón, D., Orellana-Bravo, P., & Andrade Tacuri, C. (2021). Detección de *Staphylococcus aureus* y expresión de genes de virulencia de cepas provenientes de superficies hospitalarias. *Kasmera*, 49(2), Article 2. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5568852>

