



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO PROFESIONAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus*
AISLADOS EN QUESOS SEMIDUROS ARTESANALES EXPENDIDOS EN
EL MERCADO MUNICIPAL DE VALENCIA ESTADO CARABOBO
DURANTE OCTUBRE-DICIEMBRE 2023

AUTORES:

DÍAZ H. PAULINA J.

DONATTI D. ANDREINA

TUTOR:

MSc. MONICA SEQUERA

CO-TUTOR:

LIC. GLADIEL PADRON

ASESORA METODOLOGICA:

DRA. YOLIMA FERNANDEZ

NAGUANAGUA, OCTUBRE 2024



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO PROFESIONAL
ASIGNATURA TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



ACTA DE EVALUACIÓN

Quienes suscriben, miembros del Jurado designado por la Coordinación de la Asignatura Trabajo de Investigación de la Facultad de Ciencia de la Salud - Sede Carabobo, para evaluar el trabajo titulado: **“SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* AISLADOS EN QUESOS SEMIDUROS ARTESANALES EXPENDIDOS EN EL MERCADO MUNICIPAL DE VALENCIA ESTADO CARABOBO DURANTE OCTUBRE-DICIEMBRE 2023”**, presentado por las estudiantes: **Diaz H. Paulina J. y Donatti D. Andreina**, titulares de la cédula de identidad, **V-25.955.378 y V-25.985.657**, respectivamente; y tutorado por la MSc. Sequera Mónica, titular de la cédula de identidad No. V- 14.753.718. Co-tutorado por la Lcda. Gladiel Padrón C.I V- 12.368.844. Hacemos de su conocimiento que hemos actuado como jurado evaluador del informe escrito, presentación y defensa del citado trabajo. Consideramos que reúne los requisitos de mérito para su **APROBACIÓN**.

En fe de lo cual se levanta esta acta en Valencia al 22 del mes de octubre del año 2024.

Prof. Luis González
C.I: 4.467.668
Jurado principal

Prof. Yolima Fernández
C.I: 13.382.234
Jurado principal

Prof. Nairalith Ramos
C.I: 11271318
Jurado principal



CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Yo, Sequera Mónica C.I V- 14.753.718 por medio de la presente certifico que he tenido conocimiento del trabajo de investigación que lleva por título: **SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* AISLADOS EN QUESOS SEMIDUROS ARTESANALES EXPENDIDOS EN EL MERCADO MUNICIPAL DE VALENCIA ESTADO CARABOBO DURANTE OCTUBRE-DICIEMBRE 2023**, desde su inicio hasta su culminación. El mismo fue realizado por las bachilleres: Diaz H. Paulina J. C.I V-25.955.378 y Donatti D. Andreina C.I V-25.985.657. Considero que el presente estudio reúne los requisitos suficientes para ser sometido a evaluación.



Prof. Sequera Mónica

C.I 14.753.718

Fecha: 21 / 10 / 2024

CERTIFICACIÓN DEL CO-TUTOR

Yo, Gladiel Padrón C.I V- 12.368.844 por medio de la presente certifico que he tenido conocimiento del trabajo de investigación que lleva por título: **SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* AISLADOS EN QUESOS SEMIDUROS ARTESANALES EXPENDIDOS EN EL MERCADO MUNICIPAL DE VALENCIA ESTADO CARABOBO DURANTE OCTUBRE-DICIEMBRE 2023**, desde su inicio hasta su culminación. El mismo fue realizado por las bachilleres: Diaz H. Paulina J. C.I V-25.955.378 y Donatti D. Andreina C.I V-25.985.657. Considero que el presente estudio reúne los requisitos suficientes para ser sometido a evaluación.



Prof. Gladiel Padrón

C.I 12.368.844

Fecha: 21/ 10 / 2024

DEDICATORIA

Andreina: A mi madre Tania De Goya, por su apoyo incondicional, quien han sido pilar fundamental en estos años de estudio, su dedicación y sacrificio me han enseñado el valor del esfuerzo y la perseverancia. José Escalante, gracias por cada palabra de aliento, por el apoyo y consejos, además de celebrar cada uno de mis logros como propios. A mis amigas, Paulina y Lorena, quienes se convirtieron en familia y han compartido momentos de alegrías, sacrificio y han hecho mucho más ameno los días difíciles. A mis profesores, cada lección impartida ha dejado una huella en mi formación y ha inspirado mi curiosidad intelectual. A todos aquellos, que, de alguna forma, han influido en mi crecimiento personal y académico, sin duda alguna, este trabajo es el reflejo de todas esas enseñanzas de aquellas personas que me rodean.

Paulina: Primeramente, a Dios, La Virgen y mis Ángeles, también a los que partieron, pero desde el cielo me cuidan, en especial a mi abuela Kika y Churrita; gracias por guiarme y por permitirme vivir este momento. A mis padres Jennifer y Anibal gracias por sus palabras de aliento, por su apoyo y entrega, principalmente a mi madre, quien es el motor de mi vida, gracias por enseñarme la perseverancia a través de tu esfuerzo hacia conmigo. A mis tíos, en especial Jenny y Raúl, mis hermanas Valentina, Virginia y Victoria, por su apoyo incondicional y por nunca dejarme desistir. A mis abuelos Fernando y Mireya, por llenarme de tanto amor, haciendo así, desaparecer mis dudas con cada palabra de apoyo. A mis primos, en particular Fernando y Andrea quienes a pesar de la distancia siempre estuvieron conmigo. A las hermanas que me regaló esta carrera Lorena, Andreina y Valentina, gracias por crecer juntas, por cada risa y llanto, nuestro sueño ya casi se cumple. A mis demás familiares, profesores y a todos aquellos que de una u otra forma formaron parte de esto, gracias por su ayuda en mi crecimiento tanto personal como profesional, esto va dedicado a ustedes con todo el amor.

RECONOCIMIENTO

A todos aquellos que han hecho posible la realización de este trabajo de investigación. En primer lugar, a nuestra tutora Mónica Sequera, por su guía, motivación constante a lo largo de este proceso, su experiencia y conocimientos han sido fundamentales para el desarrollo de este trabajo. A nuestra Co-tutora Gladiel Padrón, por su compromiso invaluable apoyo a lo largo del proceso de análisis de las muestras. A nuestra asesora metodológica, Yolima Fernández, por su compromiso con nuestra investigación, agradecemos profundamente el tiempo invertido en guiarnos a través de los procesos y compartir tus conocimientos, gracias a su ayuda, hemos podido mejorar nuestras estrategias y alcanzar nuestros objetivos. Profesor Luis González, proporcionándonos su colaboración durante la recolección de datos. Finalmente, a todos que, de una manera u otra, contribuyeron a la realización de este trabajo. Su apoyo es invaluable, es y será recordada con gratitud.

ÍNDICE

	página
Índice de tablas	viii
Índice de gráficos	ix
Resumen	x
INTRODUCCIÓN	12
Objetivo General	15
Objetivos Específicos	15
METODOLOGÍA	16
Tipo de Investigación	17
Población y Muestra	17
Procedimientos Metodológicos	17
Pruebas de identificación	17
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	24
RECOMENDACIONES Y LIMITACIONES	25
BIBLIOGRAFÍA	26

ÍNDICE DE TABLAS

Número de tabla	Descripción	Página
1	Distribución de frecuencia de aislamientos en diferentes medios de cultivo.	23

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Número de tabla	Descripción	Página
1	Distribución de frecuencia de resultados de las pruebas DNAsa, Manitol y Coagulasa.	24
2	Distribución de frecuencia del patrón de susceptibilidad del <i>Staphylococcus aureus</i> a los antibióticos ensayados.	25



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO PROFESIONAL
ASIGNATURA TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *Staphylococcus aureus* AISLADOS EN QUESOS SEMIDUROS ARTESANALES EXPENDIDOS EN EL MERCADO MUNICIPAL DE VALENCIA ESTADO CARABOBO DURANTE OCTUBRE-DICIEMBRE 2023

Autores: Diaz H. Paulina J. y Donatti D. Andreina.
Tutor: MSc. Mónica Sequera.

Co-tutor: Gladiel Padrón.
Asesora metodológica: Dra. Yolima Fernández.
Realizado en: Departamento de microbiología,
Universidad De Carabobo
Financiado: por las autoras
Año: 2024.

RESUMEN

Las enfermedades alimentarias pueden ser provocadas por la ingesta de productos contaminados, como los quesos, que pueden albergar el microorganismo *Staphylococcus aureus*. Este tipo de queso es comúnmente encontrado en mercados municipales. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* aislados en quesos semiduros artesanales expendidos en el mercado municipal de Valencia, Estado Carabobo, durante el periodo de octubre a diciembre de 2023. Se recolectaron datos de 20 muestras tomadas en diferentes locales expendedores, siguiendo las normas COVENIN 409:2017. Los análisis revelaron que 15 muestras fueron positivas para ADNsa, manitol y coagulasa. En cuanto a la susceptibilidad antimicrobiana: Eritromicina: 60% sensibilidad, 33,3% intermedio, 6,7% resistencia; Clindamicina: 80% sensibilidad, 20% resistencia; Oxacilina: 13,3% sensibilidad, 86,7% resistencia y Cefoxitin: 6,6% sensibilidad, 93,4% resistencia. Este estudio no solo contribuye a entender el problema de salud pública que representa *Staphylococcus aureus* en quesos artesanales, sino que también llama a mejorar las condiciones higiénicas en su producción y distribución.

Palabras clave: Susceptibilidad, antimicrobiana, microorganismos, quesos, *Staphylococcus aureus*

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es un microorganismo encontrado comúnmente en la piel y las fosas nasales de los seres humanos pudiendo ser causa de intoxicaciones alimentarias graves. Es posible que este microorganismo pueda ser portador de genes de resistencia. La contaminación por *Staphylococcus aureus* de los alimentos, especialmente los productos lácteos, pudiendo convertirse en graves problemas de salud pública. Esta bacteria puede proliferar en ambientes con poca humedad y altas concentraciones de sal, condiciones que son típicas de la fabricación de queso.¹

La presencia de *Staphylococcus aureus* en los alimentos o específicamente el queso puede atribuirse a la leche contaminada, la manipulación inadecuada o la insuficiente higiene durante la producción, la preservación inadecuada, también a condiciones de pH y humedad no óptimas también favorecen su crecimiento en el queso, es decir a no cumplir con las normas establecidas para la manipulación de alimentos como lo son las normas COVENIN.²

Esta bacteria gram positiva en forma de cocos o esferas es considerada una de las especies más peligrosa de los estafilococos, se encuentra distribuida a nivel mundial generando diversos brotes y se ubica como una de las principales bacterias responsables de intoxicación alimentaria, causando desde malestares gastrointestinales, fiebre y erupción cutánea, lo cual genera un costo anual muy alto para la sociedad.

En tal sentido, Roldan en el 2023, señaló que las enfermedades transmitidas por los alimentos “ETAS”, son un problema de salud, y se han

incrementado a nivel mundial, en donde *Staphylococcus aureus* es un agente causante de dicha patología, presente en distintos tipos de alimentos, como, por ejemplo, el queso fresco artesanal, que debido a los diferentes procesos de su elaboración provoca el crecimiento bacteriano siendo fuente de contaminación y/o amenaza al consumidor.³

Por otra parte, se han realizado estudios que confirman la presencia de este microorganismo en quesos artesanales además de que sobrepasaban el límite permitido, constituyendo un problema actual y mundial, al respecto Cucarachi N. en el 2020 realizó un estudio en la provincia de Chupaca, Perú, en el cual recolectó una muestra de 24 unidades en cuatro ferias y dos puestos de venta diferentes, las mismas fueron analizadas mediante recuento en placa según la técnica de incorporación. Finalizado el estudio, se encontró presencia de *S. aureus* en el 100% de muestras de queso de elaboración artesanal, cuya cantidad promedio fue de $6,23 \times 10^3$ UFC/g, y en todos los casos estuvo por encima de su correspondiente límite permitido; concluyendo que el queso analizado es un producto no apto para el consumo humano.⁴

Además de los factores previamente discutidos, la susceptibilidad antimicrobiana se convierte en un factor crucial para entender la eficacia de los tratamientos actuales y desarrollar nuevas estrategias terapéuticas, tal como; Acosta en el 2019, estudió la susceptibilidad a antibióticos y el perfil plasmídico de *Staphylococcus aureus* aislado de queso costeño, blando, semiduro y duro, expandidas en diferentes puntos de venta de la ciudad de Valledupar. Por el método de Difusión del disco en agar, se determinó la resistencia a antibióticos y con la técnica de lisis alcalina y electroforesis en gel de agarosa, el perfil plasmídico. Como resultado, se obtuvo una carga microbiana por encima de 10^3 UFC/g, el valor promedio máximo permitido, según la norma COVENIN, lo cual indica que se puede desencadenar brotes por intoxicación con estafilococos. Además, se demostró la presencia de *S.*

aureus en los quesos costeños blandos (75%). Todas las cepas mostraron sensibilidad a oxacilina, gentamicina, ciprofloxacina, cefoxitin, clindamicina, trimetoprim sulfa, vancomicina, rifampin, e imipenen.⁵

Las buenas prácticas de higiene en la producción de queso, que abarcan desde la selección de materias primas hasta el almacenamiento, son fundamentales para prevenir la contaminación por *Staphylococcus aureus*. Las autoridades de salud desempeñan un papel importante en la supervisión y regulación de la calidad de los productos lácteos. La colaboración entre los productores, las autoridades y otros actores de la cadena de suministro es esencial para garantizar la seguridad alimentaria y prevenir los riesgos asociados con *Staphylococcus aureus* y sus enterotoxinas.

En Venezuela en los últimos años se han descubierto brotes significativos a nivel alimentario, donde el agente causal ha sido el *Staphylococcus aureus*, trayendo consigo consecuencias a nivel de salud pública, desconociendo en cierta parte, lo que puede traer consigo esta bacteria en nuestro organismo, donde se ve implicado su mecanismo de resistencia y producción de enterotoxinas.⁶

El objetivo de este trabajo de investigación es no solo detectar la presencia de *Staphylococcus aureus*, sino también, su susceptibilidad antimicrobiana, para poder informar de manera actualizada los riesgos de enfermedades existentes transmitido por ingesta de este tipo de alimento.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1 Objetivo general

Evaluar la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* aislados en quesos semiduros artesanales expendidos en el mercado municipal de Valencia Estado Carabobo durante el periodo de octubre a diciembre 2023.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar los indicadores microbiológicos en muestras de quesos semiduros artesanales expendidos en el Mercado Municipal de Valencia Estado Carabobo.
- Aislar las colonias típicas de *Staphylococcus aureus* mediante técnicas microbiológicas, en quesos semiduros artesanales expendidos en el Mercado Municipal de Valencia Estado Carabobo.
- Identificar el mecanismo de resistencia de los aislados de *Staphylococcus aureus* en quesos semiduros artesanales expendidos en el Mercado Municipal de Valencia Estado Carabobo.

METODOLOGÍA

Diseño y tipo de investigación

La investigación estuvo enmarcada en un diseño de campo no experimental, en la cual se mencionan situaciones y eventos observados a medida que van ocurriendo. Además, el estudio es de tipo descriptivo, de corte transversal, en vista de que la recolección de los datos se hará en dos tiempos y recolectado directamente en el lugar establecido.⁽⁷⁾

Población y muestra

La población estuvo constituida por quesos semiduros artesanales expendidos en el mercado municipal en Valencia Estado Carabobo, en el periodo de tiempo de octubre a diciembre 2023.

La muestra fue seleccionada a través de un muestreo probabilístico. De forma aleatoria se seleccionaron alrededor de 10 establecimientos de quesos, en donde se tomaron dos muestras distintas de quesos semiduros en un periodo de 15 días de diferencia, para un total de 20 muestras.

Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizó una ficha de registro en la cual se llevó un control de los resultados obtenidos en cada una de las pruebas microbiológicas.

Procedimientos metodológicos

Para la obtención de la muestra se visitó el Mercado Municipal de Valencia Estado Carabobo. Una vez obtenidas las muestras de los locales expendedores, se transportaron refrigeradas al laboratorio donde se procesaron en función de los objetivos propuestos. Para ello, inicialmente se prepararon las diluciones seriadas de las mismas y se determinó la carga microbiana mediante siembra en superficie y vertidos en placas a Coliformes Totales y Fecales, *E. coli*, mohos y levaduras, así como *S. aureus*; posteriormente, se realizaron dos pruebas bioquímicas (DNasa y Coagulasa) para corroborar colonias de *Staphylococcus aureus*. Todos los datos y observaciones que se obtuvieron de los indicadores se registraron en una ficha o guía diseñada previamente.

Las muestras fueron procesadas según la norma COVENIN 1126:2021, se identificaron y prepararon las muestras para el análisis microbiológico, asegurándonos así resultados válidos, confiables a través de una recolección segura.

Pruebas de identificación

1. Determinación de prevalencia de indicadores microbiológicos en muestras de queso blanco semiduro mediante métodos convencionales.

1.1 Preparación de diluciones seriadas según Norma COVENIN 1126: 89

Se tomaron porciones de diferentes sitios del queso para obtener una muestra representativa. Se pesaron 100 g de queso blanco semiduro en balanza electrónica y se homogenizó de manera manual en su respectiva bolsa anti derrame. Posteriormente, se añadieron 225 ml de agua peptonada

al 0,1% preparada previamente, de este modo se obtuvo la dilución al 1:10. Se realizarán tres (3) diluciones seriadas, tomándose un 1 mL de la dilución anterior y agregándose 9mL de agua peptonada para obtener así dichas diluciones decimales.

En el primer muestreo se realizaron diluciones desde 10^2 hasta 10^4 .sin embargo, al no tener crecimiento de microorganismos pues, en los siguientes muestreos la dilución se llegó hasta 10^3 .

1.2 Tinción de Gram

Se realizó la tinción de Gram a las 20 muestras presuntivas de *Staphylococcus aureus*, en las cuales se observaron estructuras en forma de cocos Gram positivos, de color violeta, con diámetros aproximados desde 0,5 hasta casi 1,5 μm .

2. Determinación de bacterias coliformes totales, fecales y *E. coli* según Norma COVENIN 1104: 96

2.1 Coliformes totales

Se tomó tres diluciones: 10^1 , 10^2 y 10^3 y se realizó un vertido en placa, para lo cual, se agregó 1 mL de la dilución preparada en cada placa de Petri mediante una pipeta estéril y se vertió 20 mL del medio Mac Conkey. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio, y al solidificarse se invirtió las placas y colocó en la incubadora a 35°C durante 24h. Después de este periodo, se contaron las colonias de color rosadas mucosas o rojas con halo turbio pues al utilizar la lactosa en el medio, bacterias Lac+ como *E. coli*, *Enterobacter* y *Klebsiella* producen acidez, lo cual baja el pH bajo 6,8. Para contar el número de colonias obtenidas se multiplica por la dilución y se divide entre el volumen utilizado.

2.2. Coliformes fecales

De las diluciones seriadas, se procedió a realizar un vertido en placa, para ello se agregó 1 mL de la dilución preparada en cada placa de Petri mediante una pipeta estéril y se vertió 20 mL del medio Mac Conkey. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio, luego de solidificarse, se invirtieron las placas y colocaron en la incubadora a 44°C durante 24-48h. Después de este periodo, se contaron las colonias de color rosadas mucosas o rojas con halo turbio pues al utilizar la lactosa en el medio, bacterias Lac+ como *E. coli*, *Enterobacter* y *Klebsiella* producen acidez, lo cual baja el pH bajo 6,8.

2.3 E. coli

De las diluciones seriadas, se procede a realizar un vertido en placa, para ello se agrega 1 mL de la dilución preparada en cada placa de Petri mediante una pipeta estéril y se vierte 20 mL del medio Mac Conkey. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio, luego de solidificarse, se incuba 24-48hrs a 44 °C, después de este periodo, se seleccionan las colonias de color rojas con halo turbio y se someten a identificación bioquímica para corroborar su presencia.

2.4 Determinación de mohos y levaduras según Norma COVENIN 1337: 90

Se colocó 200 µl de la dilución 10^1 , 10^2 y 10^3 de la muestra original por vertido en placa en agar Saboraud Dextrosa en 3 placas de Petri por separado, se añadió a cada placa de 15 a 20 ml del medio de cultivo previamente fundido y atemperado, mezclándose cuidadosamente, una vez solidificado se invierten las placas y se incuban a 37°C observándolas diariamente durante 3 días. Con la ayuda de una cuenta colonias o lupa se

contabilizan las colonias de mohos y levaduras por separado, anotando el número de colonias y multiplicándose por la dilución correspondiente; se reportó por separado mohos y levaduras expresado como UFC/g. Se les realizó directo al microscopio tanto a levaduras como a mohos para corroborar su presencia.

3. Determinar prevalencia de cepas de *S. aureus* aisladas de las muestras de quesos blanco criollo mediante pruebas bioquímicas según Norma COVENIN 1292

3.1 Prueba de producción de Coagulasa:

Se agregó 0,5 mL de plasma de humano al cultivo de las colonias presuntivas de *S. aureus* en caldo nutritivo y se mezcló moviendo el tubo suavemente. Se incubó a 37 °C por 24 horas los tubos, y se examinó inclinándolos con cuidado para observar la formación de un coágulo firme.

3.2 Prueba de la Catalasa:

Esta prueba permitió diferenciar la familia *Staphylococcaceae* que son productores de la catalasa, de los géneros *Streptococcus* y no productores de catalasa. Se colocó sobre un portaobjetos una gota de H₂O₂ (agua oxigenada) al 30%, luego con un asa estéril transferir una pequeña cantidad de cultivo puro o colonia a identificar sobre la gota de agua oxigenada.

3.3 Agar manitol-salado:

Esta prueba a través de la fermentación de manitol, la cual es indicada por el cambio del indicador de rojo fenol, así mismo, facilitó la diferenciación de la especie de estafilococos. Los estafilococos positivos a la coagulasa (por ejemplo, *Staphylococcus aureus*) produjeron colonias de color amarillo y un medio circundante de color amarillo.

3.4 Prueba de DNasa:

Se inoculó el medio DNasa con un asa que contenía la colonia bacteriana formando una línea, en consecuencia, se prueba cada colonia sospechosa en la línea. Seguidamente se incubó a 37 °C por 24 horas. La prueba se considera positiva si se observa aclaramiento en el medio alrededor del crecimiento bacteriano.

3.5 Antibiograma por el método de difusión del disco:

En esta prueba la bacteria a estudiar se inoculó sobre la superficie de un medio con agar Mueller Hinton, y se enfrentó con discos de papel de filtro, celulosa o pastillas impregnados con concentraciones estándar de antibiótico. A medida que las bacterias se multiplican durante la incubación, el antibiótico muestra difusión en el agar. Se utilizaron discos de Cefoxitina, Oxacilina, Eritromicina y Clindamicina (entre estos dos últimos debe haber una distancia de 1,5 cm).

Las placas se llevaron a estufa a 35°C por 24 horas en aerobiosis. Transcurrida la incubación se procedió a medir el halo de inhibición, siguiendo las normas de la CLSI para determinar la resistencia o sensibilidad del microorganismo hacia el antimicrobiano enfrentado.

RESULTADOS Y DISCUSION

En esta investigación se analizaron 20 muestras de quesos semiduros artesanales provenientes de 10 establecimientos comerciales. En la tabla 1 se muestra la distribución de frecuencia de los aislamientos obtenidos en los diferentes medios de cultivo empleados. Se puede observar que, del total de las muestras evaluadas, todas ellas presentaron crecimientos microbiológicos en el medio Sabouraud, lo cual es indicativo de crecimiento de hongos en general, esto es similar a lo reportado por Alfonso-Vargas et al (2024) quienes evidenciaron que en 100% de las muestras de ese estudio presentaron recuentos de mohos y levaduras superiores a los límites permisibles, lo que deja en evidencia la deficiente actividad microbiológica de este alimento. Mientras que en el agar Mac Conkey hubo diferentes crecimientos dependiendo de la temperatura de incubación. Es decir, hubo mayor frecuencia de crecimiento en el agar Mac Conkey cuando la incubación se realizó a 37°C. Estos resultados sugieren que en 9 de cada 10 muestras de quesos se aislaron Coliformes Totales, mientras que en 3 de cada 4 muestras de quesos estudiadas se aislaron cepas sugestivas de *E. coli*, estos resultados concuerdan con lo expresado por Moreano et al (2024), donde revelan que el 75% de las muestras analizadas superan el nivel permisivo de *E. coli*, además los análisis de Coliformes totales mostraron recuentos que excedían los parámetros permisibles, con valores entre 10^4 y 10^5 UFC/g. Así mismo, Ramírez et al (2024) determinaron que el 90% de las muestras incumplían la normativa vigente para coliformes totales y el 96% de las muestras lo incumplía para *E. coli*.

Adicionalmente, se observó que todas las muestras sembradas en el medio Vogel-Johnson mostraron crecimiento bacteriano del 100%, a cuyas

cepas fue necesario realizarle pruebas confirmatorias para *Staphylococcus aureus*.

Tabla 1.- Distribución de frecuencia de aislamientos en diferentes medios de cultivo.

Frecuencia	Vogel-Johnson	Mac Conkey		Sabouraud
		37 °C	44 °C	
n (%)	20 (100)	18 (90,0)	15 (75,0)	20 (100)

Para la confirmación de la presencia de cepas de *Staphylococcus aureus* presentes en las muestras de quesos estudiadas, fue necesario emplear las pruebas DNAsa, manitol y coagulasa a aquellas cepas que mostraron crecimiento en el medio de cultivo Vogel-Johnson.

Al respecto, en el gráfico 1 revela que 15 (75,0 %) de las cepas que mostraron crecimiento en el medio Vogel-Johnson también dieron positivo a las pruebas DNAsa, manitol y coagulasa. Estos resultados son indicativos de la presencia de *Staphylococcus aureus* en las muestras analizadas. Reinteria-Ortega et al (2019) encontraron que el 93,68% de los quesos analizados fueron positivos a la presencia de *S. aureus* y sólo el 6,32% resultaron negativos; a su vez Feijó et al (2023) reportaron un 88,33% de *S. aureus* en las muestras analizadas.

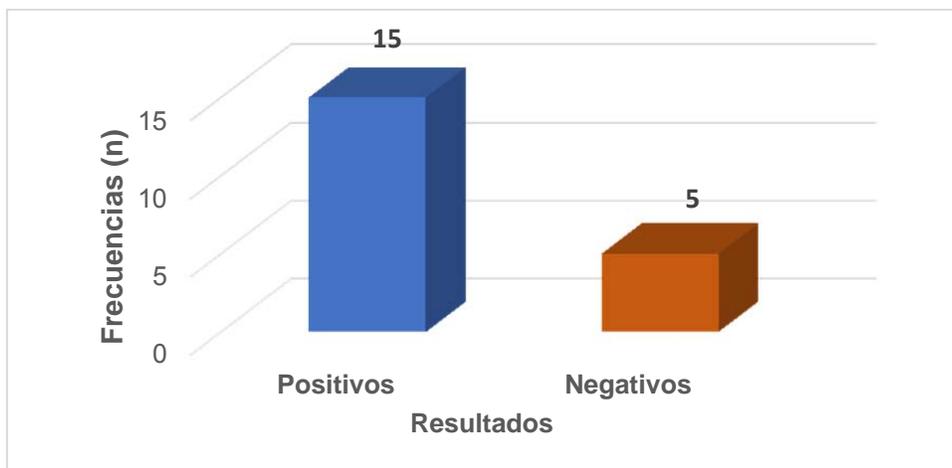


Gráfico 1. Distribución de frecuencia de resultados de las pruebas DNAsa, Manitol y Coagulasa.

En la presente investigación se pudo evidenciar que en 18 (90,0 %) de las muestras de quesos artesanales analizadas se confirmó el crecimiento de coliformes totales, los cuales presentaron una carga microbiana, en términos de Media \pm Desv. Estándar, de $4,8 \times 10^4 \pm 2,9 \times 10^4$ UFC/g. De igual forma, se observó que en 15 (75,0 %) de las muestras de queso evaluadas se reafirmó la presencia de *E. coli*, cuya carga microbiana fue de $5,1 \times 10^4 \pm 4,7 \times 10^4$ UFC/g. Por otro lado, se pudo evidenciar que en todas (100,0 %) las muestras de queso estudiadas hubo crecimiento de hongos (mohos y levaduras), los cuales mostraron una carga microbiana de $5,2 \times 10^4 \pm 3,1 \times 10^4$ UFC/g. Finalmente, entre el total de las muestras de quesos artesanales estudiados, se pudo evidenciar en 15 (75,0 %) de ellas la presencia de *S. aureus* con una carga microbiana de $5,8 \times 10^4 \pm 6,1 \times 10^4$ UFC/g.

En referencia a los patrones de susceptibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos ensayados en la presente investigación, en el Gráfico 2 revela que hubo mayor sensibilidad a la Clindamicina (80%) y Eritromicina (60%), mientras que el *Staphylococcus aureus* mostró mayor resistencia a la Oxacilina (86,7) y Cefoxitin (93,4), estos

datos concuerdan con lo publicado por Reintera-Ortega et al (2019), teniendo el 89,88% resistente a betalactámicos y un 25,8% resistente al menos a uno de otros antimicrobianos.

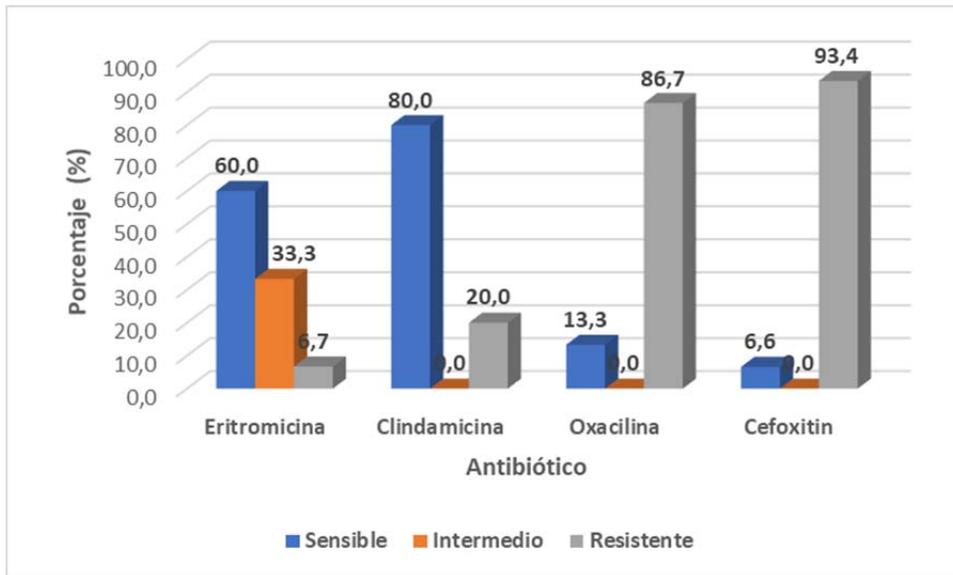


Gráfico 2. Distribución de frecuencia del patrón de susceptibilidad del *Staphylococcus aureus* a los antibióticos ensayados.

CONCLUSIÓN

La investigación sobre la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* en quesos semiduros artesanales del mercado municipal de Valencia, Estado Carabobo, revela hallazgos sobre la seguridad alimentaria. La detección de este microorganismo en el 75% de las muestras sugiere ser un estudio de interés a nivel de salud pública. Los resultados obtenidos muestran que la mayoría de las cepas de *Staphylococcus aureus* presentan resistencia a varios antibióticos, con unos resultados 93,4% de resistencia a cefoxitin y un 86,7% a oxacilina, presentando una metilo resistencia a penicilina. Esto no solo sugiere una posible dificultad en el tratamiento de infecciones alimentarias causadas por esta bacteria, sino que también resalta la necesidad urgente de mejorar las prácticas de higiene y manipulación en la producción y venta de quesos artesanales.

En este contexto, los objetivos específicos de la investigación son claros: determinar indicadores microbiológicos, aislar colonias típicas e identificar mecanismos de resistencia. Promoviendo así prácticas más seguras en la industria láctea.

RECOMENDACIONES

Se sugiere el estudio de estas cepas de *Staphylococcus aureus*, a través del método PCR para la determinación de enterotoxinas producidas por este microorganismo como prueba complementaria.

LIMITACIONES

Los costos elevados de los controles y la Master Mix, requeridos para la realización de la PCR en búsqueda de las enterotoxinas que este microorganismo posiblemente pueda producir, fue una limitante para el estudio de lo antes mencionado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Enfermedades transmitidas por alimentos [Internet]. Paho.org. [Consultado el 28 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-transmitidas-por-alimentos>.
2. ELIKA Seguridad Alimentaria. Staphylococcus aureus [Internet]. 2022 [Consultado el 28 de agosto de 2023]. Disponible en: <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/staphylococcus-aureus/>
3. Roldan Tacuri GN, Wazhima Zhunio MC, Torres Segarra SM. Determinación de Staphylococcus aureus en quesos frescos del mercado 9 de octubre de la ciudad de Cuenca, Agosto 2023. Tesla revista científica [Internet]. 2024;4(1):e295. Disponible en: <https://tesla.puertomaderoeditorial.com.ar/index.php/tesla/article/download/295/405/959>.
4. Curacachi N. Frecuencia de *Staphylococcus aureus* en quesos de elaboración artesanal, comercializados en Chupaca 2020. [Internet]. Universidad de los Andes Huancayo Perú. 2021. Disponible en: [Frecuencia de Staphylococcus aureus en quesos de elaboración artesanal, comercializados en Chupaca – 2020 \(upla.edu.pe\)](https://repositorio.uhuancayo.edu.pe/handle/2018/10000)
5. Acosta Nieves IP, Roenes Galé GJ. Staphylococcus aureus procedentes de quesos costeños de Valledupar; susceptibilidad antibiótica y perfil plasmídico. Rev médica Risaralda [Internet]. 2019;25(1):10. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.22517/25395203.16681>
6. Márquez J, García R. Microflora patógena del queso blanco “telita” elaborado en cuatro estados de Venezuela. Rev An Venez Nutr. 2007. 20(1): 17-21.

7. Máster T y. Te damos 4 ejemplos de investigaciones descriptivas [Internet]. Tesis y Máster Argentina. 2021 [citado el 17 de octubre de 2024]. Disponible en: <https://tesisymasters.com.ar/investigacion-descriptiva-ejemplos/>
8. Ramirez Infante AE, Montesdeoca Tamay JA, Torres Segarra SM. Determinación de Coliformes spp y Escherichia coli en quesos frescos del mercado 9 de Octubre, Cuenca. Tesla rev cient [Internet]. 2024 [citado el 19 de octubre de 2024];4(1):e294. Disponible en: <https://tesla.puertomaderoeditorial.com.ar/index.php/tesla/article/view/294>.
- 9.

ANEXOS





ANEXOS 1 Y 2: Siembra y procesamiento inicial de quesos artesanales semiduros.



ANEXO #3: Cepas presuntivas de *Staphylococcus aureus*.

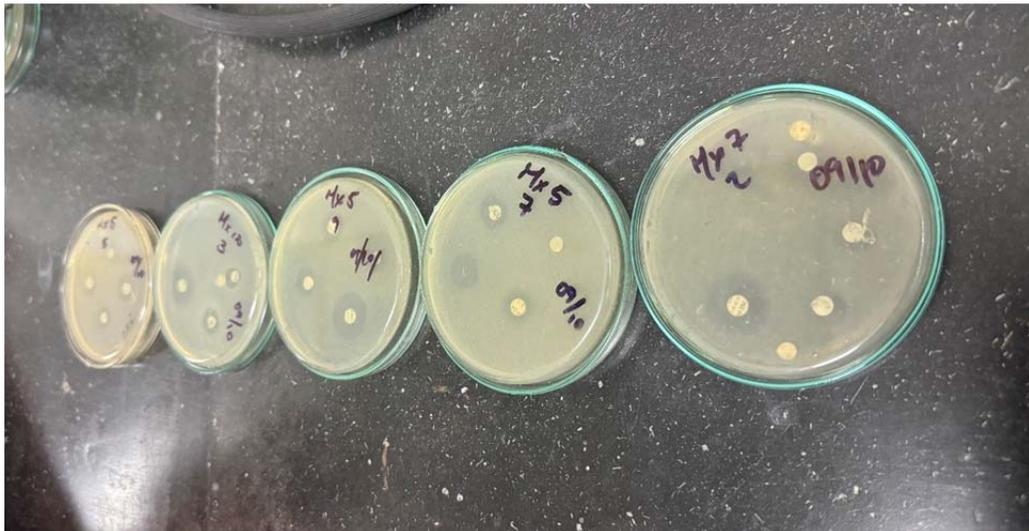


ANEXO #4: Prueba de coagulase positiva.





ANEXOS 5 Y 6: Prueba ADNasa positiva.



ANEXOS 7 Y 8: Antibiogramas por difusión de discos.