

Artículo original

Recuento de *Staphylococcus aureus* y detección de enterotoxinas estafilocócicas en queso blanco venezolano artesanal tipo “telita” expendido en mercados de la ciudad de Caracas

José Gregorio Márquez Ramos*

Cátedra de Microbiología. Escuela de Nutrición y Dietética. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Recibido 23 de febrero de 2012; aceptado 31 de mayo de 2012

Resumen: La intoxicación alimentaria estafilocócica es producida por el consumo de alimentos contaminados con enterotoxinas estafilocócicas producidas por cepas de *Staphylococcus aureus*, constituyéndose en una de las principales enfermedades alimentarias a nivel mundial. En este estudio se investigó la presencia de *S. aureus* y la producción de enterotoxinas estafilocócicas en muestras de queso blanco artesanal tipo “telita” expendidas en diferentes mercados de la ciudad de Caracas. Se analizaron 80 muestras y el recuento de *S. aureus* se efectuó según Norma Venezolana COVENIN 1292:89. La presencia de enterotoxinas tipo A, B, C y D de *S. aureus* se determinó con la prueba de aglutinación de látex en fase reversa (SET RPLA Oxoid). Se encontró carga microbiana de 10^3 - 10^4 UFC/g de *S. aureus* en el 40,0% de las muestras. Se detectaron enterotoxinas estafilocócicas en 34,2% de las muestras, resultando la enterotoxina tipo A la más frecuente (80,7%). El queso blanco artesanal tipo “telita” expendido en mercados de la ciudad de Caracas revela deficientes medidas sanitarias en su expendio y la presencia de enterotoxinas representa un potencial riesgo para la salud de los consumidores.

Palabras clave: queso artesanal, *Staphylococcus aureus*, enterotoxina, Venezuela, enfermedades transmitidas por alimentos.

Counts of *Staphylococcus aureus* and detection of staphylococcal enterotoxins in Venezuelan white artisan “telita” type cheese sold at Caracas city markets

Abstract: Staphylococcal food intoxication is produced by eating food contaminated with staphylococcal enterotoxins produced by *Staphylococcus aureus*, constituting one of the main diseases produced by food at a worldwide level. In this study we investigated *S. aureus* presence in white artisan “telita” type cheese sold at various markets in Caracas city. Eighty samples were analyzed and the bacterial counts were done according to COVENIN Venezuelan guidelines 1292:89. Presence of *S. aureus* enterotoxins type A, B, C, and D was determined by the reverse phase latex agglutination test (SET RPLA Oxoid). We found *S. aureus* bacterial loads between 10^3 – 10^4 CFU/g in 40.0% of the samples. We detected staphylococcal enterotoxins in 34.2% of the samples, enterotoxin type A being the most frequent (80.7%). The white artisan “telita” type cheese being sold at markets in Caracas city reveals deficient sanitary measures for its sale, and the presence of enterotoxins represents a potential health risk for consumers.

Keywords: artisan cheese, *Staphylococcus aureus*, enterotoxin, Venezuela, food transmitted diseases.

* Correspondencia:

E-mail: c.docentenutricion@gmail.com

Introducción

El queso blanco venezolano tipo “telita” es un queso artesanal de pasta cocida único de Venezuela elaborado con leche cruda de vaca, fabricado en fincas y asentamientos campesinos por pequeños productores de diferentes estados del país bajo un proceso completamente artesanal [1]. El queso tipo “telita” es un producto alimenticio tradicional en la dieta del venezolano y constituye un producto importante

para la economía informal, ya que el mismo es vendido sumergido en suero en envases plásticos tamaño cuñete a través de redes informales de distribución. Se consume fresco, no está protegido por ningún tipo de empaque y debido a su tecnología, condiciones de almacenamiento y comercialización, tiene una corta vida. En Venezuela la experiencia epidemiológica coloca a los quesos blancos duro, semiduro, blando, criollo, llanero, de cincho y pasteurizado, entre los alimentos implicados con mayor

frecuencia en enfermedades alimentarias, debido a su deficiente calidad microbiológica, siendo las asociaciones más frecuentemente encontradas las de quesos blancos artesanales con *Staphylococcus aureus* [2,3]. Varios investigadores han revelado la presencia de microorganismos patógenos como *S. aureus* enterotoxigénico, en quesos blancos blandos elaborados con leche sin pasteurizar, como el queso tipo “telita” [2,4-6]. Esto representa un riesgo para la salud pública, ya que este microorganismo puede producir enterotoxinas a través de las cuales ejerce su acción patógena.

Entre los numerosos factores de virulencia del *S. aureus* se encuentran las enterotoxinas estafilocócicas (SEs, Staphylococcal Enterotoxins); son proteínas simples de bajo peso molecular, termotolerantes y resistentes a la acción de las enzimas proteolíticas del tracto gastrointestinal humano. En la actualidad se reconocen 18 tipos serológicos diferentes de enterotoxinas (SEA-SEU) [7,8].

Cuando se consumen alimentos contaminados con *S. aureus*, las SEs causan gastroenteritis, estimulan el peristaltismo intestinal y ejercen un efecto sobre el sistema nervioso central que se manifiesta por náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal, cefalea y sudoración los cuales acompañan a la enfermedad gastrointestinal [9].

El mínimo número de *S. aureus* para producir suficiente enterotoxina, capaz de causar gastroenteritis en humanos, parece depender del sustrato y del tipo de enterotoxina producida [2,8-10].

El queso blanco artesanal tipo “telita”, por sus deficientes condiciones higiénicas de producción, almacenamiento, conservación y comercialización, y por las características intrínsecas del mismo, favorecen el crecimiento de *S. aureus* y la posible presencia de enterotoxinas estafilocócicas, convirtiéndolo en un producto de alto riesgo para la salud.

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la carga microbiana de *S. aureus* y la presencia de enterotoxinas estafilocócicas en muestras de queso blanco venezolano tipo “telita” expendido en diferentes mercados de la ciudad de Caracas.

Materiales y métodos

Muestreo: Se recolectaron aleatoriamente 80 muestras de queso “telita” en distintos mercados del área metropolitana de la ciudad de Caracas, Distrito Capital. Una vez adquiridas se transportaron inmediatamente bajo condiciones de refrigeración para su análisis en el laboratorio.

Evaluación microbiológica: La preparación de la muestra para la evaluación microbiológica se realizó pesando 25 gramos del queso telita, se homogenizó con 225 mL de agua peptonada (0,1%) (DIFCO) con la ayuda de un homogeneizador, modelo stomacher-400 (LAB BLENDER) y se midió el pH con un potenciómetro (Fisher, modelo 325) ajustándose con NaOH 1N estéril hasta 6,9 cuando fue necesario. A partir de esta dilución (10^{-1}) se hicieron diluciones seriadas. Los análisis microbiológicos incluyeron

recuentos de *S. aureus* de acuerdo a la metodología descrita en la norma venezolana COVENIN 1292:89 [11], con la posterior confirmación de las colonias sospechosas de *S. aureus* mediante las pruebas de la coagulasa y de la DNAsa, tal como lo indica la mencionada norma. La presencia de enterotoxinas de *S. aureus* tipo A, B, C y D se determinó por el kit de aglutinación de látex en fase reversa (SET RPLA Oxoid) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Análisis estadístico

Los recuentos de las UFC/g fueron transformados a logaritmo base 10 y se calculó la media y la desviación estándar de los recuentos; para evaluar el grado de dispersión del microorganismo en las muestras analizadas se calculó el coeficiente de variación. Se utilizó el software Statgraphics Plus versión 5.1 para Windows.

Resultados

Los recuentos de *S. aureus* expresados como unidades formadoras de colonia por gramo de queso (UFC/g), así como la distribución porcentual de las muestras de queso artesanal tipo “telita” expendido en diferentes mercados de la ciudad de Caracas, se muestran en la tabla 1. No se detectó *S. aureus* en 4 (5,0%) de las 80 muestras de queso, encontrándose en el 40,0% de las mismas altos recuentos entre $>10^3$ a $\leq 10^4$ UFC/g, seguidas de un 25,0% con recuentos $>10^2$ a $\leq 10^3$ UFC/g; sólo un 3,8% de las muestras analizadas presentaron recuentos de *S. aureus* $>$ de 10^6 UFC/g. Estos altos recuentos de *S. aureus* fueron corroborados calculando la media logarítmica y la desviación estándar.

Tabla 1. Recuento de *Staphylococcus aureus* en UFC/g en muestras de queso artesanal tipo “telita” expendido en diferentes mercados de la ciudad de Caracas.

UFC/g	Número de muestras	Porcentaje (%)
0	4	5,0
$>10^1 \leq 10^2$	9	11,2
$>10^2 \leq 10^3$	20	25,0
$>10^3 \leq 10^4$	32	40,0
$>10^4 \leq 10^5$	7	8,8
$>10^5 \leq 10^6$	5	6,2
$>10^6$	3	3,8
Total	80	100,0

La figura 1 muestra la incidencia de enterotoxinas de *S. aureus* tipo A, B, C y D en las muestras de queso blanco artesanal tipo “telita” expendidas en mercados de la ciudad de Caracas. De las 76 muestras de queso blanco artesanal tipo “telita” en las cuales se encontraron poblaciones de *S. aureus*, se detectaron enterotoxinas estafilocócicas en 26 (34,2%) de las mismas, y estas correspondieron a aquellas

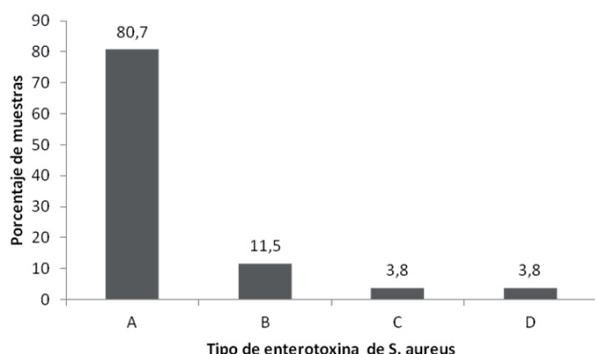


Figura 1. Porcentaje de enterotoxinas tipos A, B, C y D de *Staphylococcus aureus* detectadas en muestras de queso blanco tipo “telita” expendido en mercados de la ciudad de Caracas.

con contajes altos ($\geq 10^3$ hasta $>10^6$ UFC/g), siendo la enterotoxina tipo A la más frecuente (80,7%).

Discusión

El 40,0% de las muestras de queso blanco artesanal tipo “telita” expendidas en diferentes mercados de la ciudad de Caracas y analizadas en esta investigación presentaron recuentos de *S. aureus* entre 10^3 y 10^4 UFC/g, con lo cual exceden los límites permitidos (1×10^3 UFC/g) respecto a la presencia de *S. aureus*, según los criterios microbiológicos establecidos en la Norma Venezolana COVENIN 3822:2003 [12]. Según Miró y Ríos [2], la alta incidencia de *S. aureus* en los quesos blancos venezolanos representa un riesgo por la posible presencia de enterotoxinas, si se dan las condiciones adecuadas. Urarte y col. [6] señalan que este tipo de quesos frescos son considerados como un producto que presenta alto riesgo alimentario debido a sus características intrínsecas y a que se elabora con leche cruda, sin un tratamiento térmico previo, que favorece el crecimiento de microorganismos patógenos como el *S. aureus* a niveles que permiten la formación de enterotoxinas. Se considera que estas enterotoxinas estafilocócicas pueden detectarse a partir de 10^4 UFC/g, y que esta posibilidad se incrementa cuando las cargas de *S. aureus* se encuentran en el orden de $\geq 10^6$ UFC/g [13]. En esta investigación se pudieron detectar las enterotoxinas estafilocócicas sólo en aquellas muestras de queso “telita” con recuentos de *S. aureus* desde 10^3 UFC/g hasta valores por encima de 10^6 UFC/g.

En los quesos elaborados con leche sin pasteurizar, como el queso tipo “telita”, se produce una alta contaminación durante el proceso de paleteo e hilado a que es sometida la cuajada, posterior al periodo de cocción de la misma, mientras que en el queso blanco blando elaborado con leche pasteurizada la contaminación ocurre post proceso del tratamiento térmico [14].

Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Aray [5], quien detectó un promedio de $1,5 \times 10^3$ UFC/g de *S. aureus* en treinta muestras de queso blanco tipo “telita” expendidas en diferentes mercados de la ciudad de Caracas. Recuentos promedios de $1,5 \times 10^5$ UFC/g de *S. aureus* fueron

detectados por Díaz-Rivero y González [15] en el 69,4% de queso blanco fresco comercializado en la Ciudad de Mérida, Venezuela. Por su parte Márquez y García [4], analizando quesos blancos artesanales tipo “telita” elaborados en cuatro estados venezolanos, reportaron valores $>10^7$ UFC/g de *S. aureus*. En un estudio de muestras de queso blanco duro implicado como el principal responsable de una intoxicación alimentaria ocurrida en mayo del 2011 en el comedor de la Universidad Simón Bolívar (USB), y que afectó a 104 personas, se encontraron poblaciones de *S. aureus* del orden de 10^7 UFC/g, niveles reportados como suficientes para producir enterotoxinas en cantidad tal que pudiesen ocasionar intoxicación [16]. En esta investigación en el 34,2% de las muestras de queso blanco artesanal tipo “telita” expendidas en diferentes mercados de la ciudad de Caracas se detectaron enterotoxinas estafilocócicas, siendo la enterotoxina tipo A la más frecuente (80,7%). Esto coincide con lo reportado por Miró y Ríos [2], quienes evaluaron la calidad microbiológica de los quesos blancos venezolanos analizados en el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel” en un periodo de 10 años (1988-1998), encontrando que la enterotoxina estafilocócica tipo A fue la más prevalente con un 88,2%. En la intoxicación ocurrida en la USB, también fueron detectadas en las muestras de queso enterotoxinas estafilocócicas tipo A y C, de igual manera la enterotoxina tipo A fue detectada en los cultivos de dos colonias típicas de *S. aureus* aisladas de las muestras [16]. La presencia de enterotoxina estafilocócica tipo A podría representar un riesgo para los consumidores de este tipo de queso, debido a que esta ha sido reportada como la enterotoxina del *S. aureus* que ha producido mayores casos de intoxicación estafilocócica. En el estudio de Rodríguez y col. [17] en queso artesanal tipo “telita” de Uputa, estado Bolívar, no aislaron *S. aureus* y sí estafilococos coagulasa y DNasa negativos (no analizados en esta investigación), de los cuales se ha comprobado que algunas especies son capaces de producir enterotoxinas [18]. Los expendedores de queso artesanal tipo “telita” se caracterizan por la exhibición del producto a temperatura ambiente colocado en recipientes plásticos, sumergido en suero y sin refrigeración, así mismo en los mercados populares se expone el queso artesanal tipo “telita” en ambientes abiertos, sin ningún tipo de empaque y a temperaturas promedios entre 25 y 29 °C, manteniéndolo en estas condiciones durante varias horas, factores que contribuyen a la proliferación de *S. aureus*, empoqueciendo la calidad sanitaria del producto.

Se concluye que la presencia de elevados recuentos de *S. aureus* junto con la detección de sus enterotoxinas en las muestras de queso blanco artesanal tipo “telita” que se expenden en diferentes mercados populares de la ciudad de Caracas, alertan sobre la presencia de microorganismos patógenos productores de enterotoxinas, constituyéndose así en un riesgo directo para la salud de los consumidores de este producto.

Agradecimientos

Se agradece el soporte económico del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) de la Universidad Central de Venezuela. Proyecto PI-09-00-6868-2007.

Referencias

1. CEDRA, 2001. Definición del proceso, protocolo de producción, entrenamiento y detalles técnicos del SPS queso telita. Disponible en: <http://www.cedraweb.net/telitaindex.html>. Acceso 15 de noviembre 2008.
2. Miró A, Ríos M. Calidad microbiológica de los quesos blancos venezolanos, analizados en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel". Periodo: Enero 1988 a Junio 1998. Rev Inst Nac Hig "Rafael Rangel". 1999; 30:14-20.
3. Ríos M, Novoa ML. Apoyo del Departamento de Microbiología de Alimentos del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (INHRR) a la investigación de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). Rev Inst Nac Hig "Rafael Rangel". 1999; 30:8-13.
4. Márquez JG, García CE. Microflora patógena del queso blanco venezolano tipo telita elaborado en cuatro estados de Venezuela. An Venez Nutr. 2007; 20:17-21.
5. Aray C. Calidad microbiológica del queso blanco venezolano tipo "telita". Trabajo de Especialización. Dpto. de Postgrado. Universidad Simón Bolívar. Caracas. Venezuela. 2002.
6. Urarte E, Fernández JC, Molinero M. Calidad microbiológica de los quesos frescos comercializados en la Comunidad Autónoma del País Vasco. Alimentaria 2000; 1:37-40.
7. Bhatia A, Zahoor S. *Staphylococcus aureus* enterotoxins: A Review. J Clin Diag Res. 2007; 3:188-97.
8. Balaban N, Rasooly A. Staphylococcal enterotoxins. Intern J Food Microbiol. 2000; 61:1-10.
9. Evenson ML, Hinds MW, Bernstein RS, Bergdoll MS. Estimation of human dose of staphylococcal enterotoxin A from a large outbreak of staphylococcal poisoning involving chocolate milk. Intern J Food Microbiol. 1988; 7:311-6.
10. Bustos JA, Hamdan A, Gutierrez M. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomed. 2006; 17:287-305.
11. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) Norma Venezolana COVENIN 1292:89. Alimentos. Aislamiento y recuento de *Staphylococcus aureus*. Fondonorma. Caracas, Venezuela.
12. Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) Norma Venezolana COVENIN 3822:2003. Alimentos. Queso de pasta hilada. Caracas, Venezuela.
13. Becquer LA, Legua CV, Lara OC, Mota L. *Staphylococcus aureus*, actividad termonucleasa y enterotoxinas en alimentos. Rev Cubana Aliment Nutr. 1999; 11:89-93.
14. Oyón R. Descripción, elaboración y características microbiológicas químicas y organolépticas del queso blando ("pasteurizado"). Trabajo de Ascenso. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Maracay.
15. Díaz-Rivero C, González B. *Staphylococcus aureus* en queso blanco fresco y su relación con diferentes microorganismos indicadores de calidad sanitaria. RESPYN. 2001; 2(3):1-9.
16. Informe técnico. Intoxicación de origen alimentario del 25-05-11. Servicio de desayuno-Comedor Casa del estudiante de la Universidad Simón Bolívar. Universidad Simón Bolívar. Vicerrectorado Administrativo. Dirección de Servicios. Mayo 2011.
17. Rodríguez C, Caldas L, Ogeerally P. Calidad sanitaria en queso artesanal tipo "telita". Upata, estado Bolívar, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol. 2009; 29:98-102.
18. Halpin I. *Staphylococcus aureus*. Production of extracellular compounds and behavior in foods. J Food Prot. 1989; 52: 267-82.