

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE LAS CEPAS DE *Staphylococcus aureus* AISLADAS EN QUESOS SEMIDUROS ARTESANALES

Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus strains isolated from semi-hard artisanal cheeses

Mónica Sequera^{*}, Andreina Donatti^{**}, Paulina Díaz^{**}, Gladiel Padrón^{*}

^{*}Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias de la Salud,
Universidad de Carabobo, Carabobo-Venezuela. ^{**}Escuela de Bioanálisis, Departamento de Estudios Clínicos.
Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Carabobo-Venezuela

Correo-E: monicasequera.nm@gmail.com

Recibido: 12/04/26 - Aprobado: 20/06/26

RESUMEN

Las enfermedades alimentarias pueden ser provocadas por la ingesta de productos contaminados, como los quesos, que pueden albergar el microorganismo *Staphylococcus aureus*. Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana de *S. aureus* en quesos semiduros artesanales fabricados en una finca privada en Valencia, edo. Carabobo, durante el periodo de octubre a diciembre 2023. La relevancia de este tema radica en que estos productos son de alto consumo, y carecen frecuentemente de controles sanitarios estrictos, convirtiéndose en vehículos potenciales de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) y en reservorios de bacterias resistentes a antibióticos, lo cual representa un riesgo crítico para la salud pública. El estudio se fundamentó en la hipótesis de que el manejo inadecuado y la falta de higiene en la producción artesanal favorecen la proliferación de cepas de *S. aureus* con perfiles de resistencia preocupantes. Se empleó un diseño de campo no experimental,

ABSTRACT

Foodborne diseases can be triggered by the ingestion of contaminated products, such as cheeses, which may harbor the microorganism *Staphylococcus aureus*. The antimicrobial susceptibility of *S. aureus* was evaluated in artisanal semi-hard cheeses produced at a private farm in Valencia, Carabobo State, during the period from October to December 2023. The relevance of this topic lies in the fact that these products are widely consumed and frequently lack strict sanitary controls, becoming potential vehicles for foodborne illnesses (FBIs) and reservoirs for antibiotic-resistant bacteria, which represents a critical public health risk. The study was based on the hypothesis that inadequate handling and lack of hygiene in artisanal production favor the proliferation of *S. aureus* strains with concerning resistance profiles. A non-experimental, descriptive, cross-sectional field design was employed. The sample consisted of 20 units of cheese selected through probabilistic sampling. The methodology included the preparation of serial dilutions and the

DOI: <https://doi.org/10.56306/RFCV.2025.66.1.03>

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia (To whom correspondence should be addressed)

de tipo descriptivo y corte transversal. La muestra consistió en 20 unidades de queso seleccionadas mediante muestreo probabilístico. La metodología incluyó la preparación de diluciones seriadas y la determinación de carga microbiana siguiendo las normas COVENIN 409:2017. Se realizaron pruebas de identificación bioquímica para confirmar los aislados de *S. aureus*. La susceptibilidad antimicrobiana, se evaluó mediante el método de difusión de disco para Cefoxitina, Oxacilina, Eritromicina y Clindamicina. Los resultados revelaron que el 75% de las muestras fueron positivas para *S. aureus*. Se detectó una alarmante resistencia a Cefoxitina (93,4%) y Oxacilina (86,7%), indicando meticilinoresistencia. Por el contrario, se observó una mayor sensibilidad a Clindamicina (80%) y Eritromicina (60%). En conclusión, la alta prevalencia de cepas multirresistentes evidencia una falla crítica en la seguridad alimentaria de estos productos. Las implicaciones prácticas sugieren la necesidad urgente de implementar programas de capacitación en buenas prácticas de manufactura para productores y mejorar la vigilancia sanitaria por parte de las autoridades competentes.

Palabras clave: *Staphylococcus aureus*, queso artesanal, resistencia antimicrobiana, inocuidad alimentaria, Venezuela.

determination of microbial load following COVENIN 409:2017 standards. Biochemical identification tests were performed to confirm *S. aureus* isolates. Antimicrobial susceptibility was evaluated using the disk diffusion method for Cefoxitin, Oxacillin, Erythromycin, and Clindamycin. The results revealed that 75% of the samples were positive for *S. aureus*. An alarming resistance to Cefoxitin (93.4%) and Oxacillin (86.7%) was detected, indicating methicillin resistance. Conversely, a higher susceptibility to Clindamycin (80%) and Erythromycin (60%) was observed. In conclusion, the high prevalence of multi-drug resistant strains evidences a critical failure in the food safety of these products. Practical implications suggest an urgent need to implement training programs in Good Manufacturing Practices (GMP) for producers and to improve sanitary surveillance by competent authorities.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, artisanal cheese, antimicrobial resistance, food safety, Venezuela

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es un microorganismo encontrado comúnmente en la piel y las fosas nasales de los seres humanos, pudiendo ser una posible causa de intoxicaciones alimentarias graves. Es posible que este microorganismo pueda ser portador de genes de resistencia. La contaminación de los alimentos por *S. aureus*, especialmente los productos lácteos, como el caso del queso, puede resultar 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 *S. aureus* en los alimentos o específicamente en 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 óptimas que favorecen su crecimiento en el queso, es decir, es consecuencia de no cumplir con las normas establecidas para la manipulación de alimentos como lo indican 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.

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.

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 *S. aureus*. 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 *S. aureus* y sus enterotoxinas [3].

En Venezuela, en los últimos años, se han descubierto brotes significativos a nivel alimentario, en los cuales el agente causal ha sido el *S. aureus*, trayendo consigo consecuencias a nivel de salud pública, desconociendo en cierta parte las consecuencias que puede traer consigo esta bacteria en nuestro organismo, viéndose implicado su mecanismo de resistencia y producción de enterotoxinas [4].

El objetivo de este trabajo fue detectar la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos semiduros artesanales fabricados en una finca del sector La Encantada, estado Carabobo, así como también, su susceptibilidad antimicrobiana, con el fin de poder informar, de manera actualizada, los riesgos de enfermedades existentes transmitidas por ingesta de este tipo de alimento.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra

La muestra consistió en 20 quesos semiduros artesanales procedentes de una finca privada en el sector La Encantada, Valencia, estado Carabobo. La selección se hizo mediante un muestreo no probabilístico de octubre a diciembre de 2023. De forma aleatoria, se recolectaron 10 muestras distintas en dos momentos diferentes, con un intervalo de 15 días entre cada grupo.

Procedimientos metodológicos

Una vez obtenidas las muestras, se transportaron refrigeradas al laboratorio de investigación del Departamento de Microbiología de la Universidad de Carabobo, donde se procesaron en función de los objetivos propuestos. Las muestras fueron procesadas según la norma COVENIN 409:2017.

Para ello, inicialmente se prepararon diluciones seriadas de las muestras para determinar su carga microbiana. El recuento se realizó mediante técnicas de siembra en superficie y vertido en placa para coliformes totales y fecales, *E. coli*, mohos, levaduras y *S. aureus*. Posteriormente, se aplicaron pruebas bioquímicas (DNasa y coagulasa) para confirmar las colonias presuntivas de *S. aureus*.

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 (Ohaus, Modelo CS2000), homogenizándose de manera manual en su respectiva bolsa anti derrame. Posteriormente, se añadieron 225 mL de agua peptonada al 0,1%, de este modo se obtuvo la dilución 1:10. Se realizaron tres (3) diluciones seriadas, tomándose un 1 mL de la dilución anterior y agregándose 9 mL de agua peptonada, para obtener así dichas diluciones decimales. Para asegurar la representatividad de la muestra, se recolectaron porciones de diferentes zonas del queso blanco semiduro. Se pesaron 100 g de la muestra en una balanza electrónica (Ohaus, modelo CS2000) y se transfirieron a una bolsa antiderrame, se trituraron y posteriormente se tomaron la cantidad de 25 g. A continuación, se añadieron 225 mL de agua peptonada al 0,1 % y se homogeneizó de forma manual para obtener la dilución inicial (1:10). A partir de esta, se prepararon tres diluciones decimales seriadas, transfiriendo 1 mL de la dilución previa a tubos con 9 mL de agua peptonada. Durante el primer muestreo se evaluaron las diluciones desde 10^{-2} hasta 10^{-4} ; no obstante, debido a la ausencia de crecimiento microbiano, en los muestreos subsiguientes el procedimiento se restringió hasta la dilución 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 procesaron las diluciones mediante la técnica de vertido en placa en agar MacConkey, incubándose a 35 °C durante 24 h. Tras el periodo de incubación, se procedió al recuento de las colonias con morfología mucosa rosada o rojas con halo turbio; estas características son indicativas de la fermentación de la lactosa presente en el medio, lo cual acidifica el entorno y genera el viraje del indicador de pH.

2.2. Coliformes fecales

A partir de las diluciones seriadas, se realizó la siembra por vertido en placa en agar MacConkey, incubándose a 44 °C, por un periodo de 24 a 48 h. Tras la incubación, se cuantificaron las colonias con morfología mucosa rosada o rojas con halo turbio; estas características son indicativas de bacterias lactosa positivas (Lac+), como *E. coli*, *Enterobacter* y *Klebsiella*, las cuales fermentan este carbohidrato produciendo ácidos orgánicos que precipitan las sales biliares y viran el indicador de pH del medio.

2.3 *E. coli*

De las diluciones seriadas, se procede a realizar un vertido en placa en el medio Mac Conkey, se incubó 24-48h a 44 °C, después de este periodo, se seleccionó las colonias de color rojo con halo turbio y se sometieron a identificación bioquímica (kligger, indol, citrato, lia y rojo de metilo), para corroborar su presencia.

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

Para este ensayo, se tomó de la dilución de la muestra original y por vertido en placa se sembró en agar Saboraud Dextrosa y se incubó a 37°C, observándolas diariamente durante 3 d. Con la ayuda de una cuenta colonias o lupa se contabilizaron las colonias de mohos y levaduras por separado, reportando así un 70% de las muestras con levadura y un 30% de ellas con mohos. También, se le realizó

un examen 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 queso blanco criollo mediante pruebas bioquímicas, según Norma COVENIN 1292

3.1 Prueba de producción de Coagulasa:

En este estudio se realizó la prueba de la coagulasa en tubo, para lo cual se emulsionó una alícuota de suspensión bacteriana y de plasma humano fresco (hombres sanos), obtenido con tubos de citrato. La mezcla plasma-suspensión bacteriana se incubó a 37° C y se observó la formación del coágulo a las 4 h, obteniendo así de 20 muestras estudiadas 15 de ellas, es decir, el 75% dio positivo. En los casos negativos, se reincubó toda la noche y se procedió a su lectura a las 18-24 h, continuando así con un resultado negativo.

3.2 Prueba de la Catalasa

Para la identificación de las cepas, se realizó la prueba de la catalasa, la cual discrimina entre estafilococos (catalasa positivos) y estreptococos (catalasa negativos). La técnica se llevó a cabo disponiendo una gota de agua oxigenada al 30% en un portaobjetos y añadiendo una pequeña cantidad de la colonia en estudio. La aparición de burbujas confirmó la presencia de la enzima en la totalidad de las cepas aisladas (100%), validando su pertenencia a la familia Staphylococcaceae.

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, 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, fenómeno que ocurrió en 15 muestras del estudio (75%).

3.4 Prueba de DNasa

Se inoculó el medio DNasa con azul de toluidina, con un asa que contenía la colonia bacteriana formando una línea, en consecuencia, se probó cada colonia sospechosa en la línea. Seguidamente, se

incubó a 37 °C por 24 h. Considerando positivas a 15 muestras, ya que se observó el halo rosado alrededor del crecimiento de la colonia.

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 Müller 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).

Cuadro 1. Distribución de frecuencias de los aislados bacterianos obtenidos en los 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)

Las placas se llevaron a estufa a 35°C por 24 h en aerobiosis. Transcurrida la incubación, se procedió a medir el halo de inhibición, siguiendo las normas de la CLSI 2025 [5], para determinar la resistencia o sensibilidad del microorganismo hacia el antimicrobiano enfrentado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta investigación se analizaron 20 muestras de quesos semiduros artesanales provenientes de una finca privada del sector La Encantada, Valencia, edo. Carabobo. En el Cuadro 1, se muestra la distribución de frecuencia de los aislamientos obtenidos en los diferentes medios de cultivo empleados. Se puede observar que el total de las muestras evaluadas presentó crecimientos microbiológicos en el medio Sabouraud, lo cual es indicativo de crecimiento de hongos en general, siendo similar a lo reportado por

Alfonso-Vargas [6], quienes revelaron que el 100% de las muestras en ese estudio presentó recuentos de mohos y levaduras superiores a los límites permisibles, lo cual 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 y col. [7], quienes 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 y col. [8] 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*.

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



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

que mostraron crecimiento en el medio de cultivo Vogel-Johnson.

Al respecto, el Gráfico 1 revela que 15 (75 %) 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. Rentería-Ortega y col. [9] encontraron que el 93,68% de los quesos analizados fue positivo a la presencia de *S. aureus* y sólo el 6,32% resultó negativo; a su vez Feijóo y col. [10] reportaron un 88,33% de *S. aureus* en las muestras analizadas.

En la presente investigación, se pudo evidenciar que en 18 (90%) de las muestras de quesos artesanales analizadas se confirmó el crecimiento de coliformes totales, los cuales presentaron una carga microbiana, en términos de media $\pm$ desviación estándar, de $4,8 \times 10^4 \pm 2,9 \times 10^4$ UFC/g. De igual forma, se observó que en 15 (75%) 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 %) 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 %) 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. Está marcada dispersión de los datos, en la cual la desviación estándar supera el

valor de la media, evidencia una alta heterogeneidad en la contaminación de las muestras analizadas. Esta variabilidad es característica de los productos lácteos de elaboración artesanal, en los cuales factores como la fluctuación en la calidad de la materia prima, la falta de estandarización en los procesos de pasteurización y las condiciones ambientales de expendio favorecen una distribución irregular de *S. aureus*. La presencia de valores extremos (picos de contaminación) desplaza la media aritmética, sugiriendo que la carga bacteriana no sigue una distribución normal, un fenómeno recurrente en estudios de inocuidad alimentaria cuando existen focos de contaminación puntuales, pero severos.

En referencia a los patrones de susceptibilidad de las cepas de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos ensayados en la presente investigación, el Gráfico 2 revela que hubo mayor sensibilidad a Clindamicina (80%) y Eritromicina (60%); mientras que el *Staphylococcus aureus* mostró mayor resistencia a Oxacilina (86,7) y Cefoxitin (93,4), estos datos concuerdan con lo publicado por Rentería-Ortega y col. [9], teniendo el 89,88% resistente a betalactámicos y un 25,8% resistente al menos a uno de otros antimicrobianos.

CONCLUSIÓN

La investigación sobre la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* en quesos semiduros artesanales, revela hallazgos sobre la seguridad

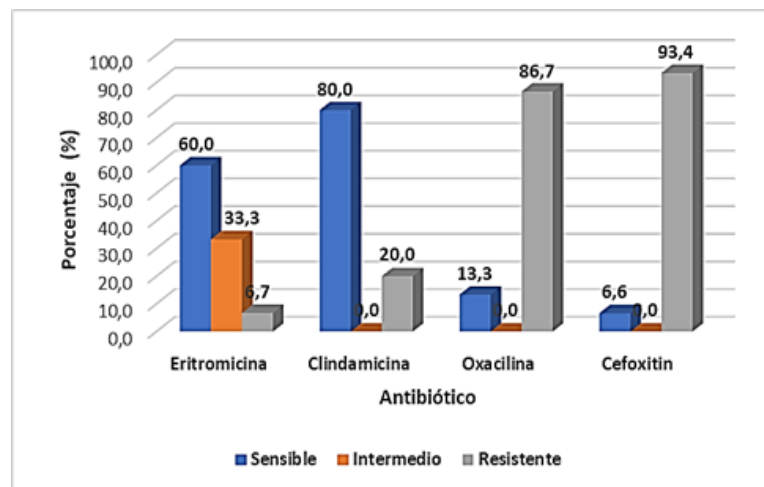


Gráfico 2. Distribución de frecuencia de resultados de las pruebas DNAsa, Manitol y Coagulasa

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 de 93,4% de resistencia a cefoxitin y 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.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Enfermedades transmitidas por alimentos [Internet]. Washington, D.C.: OPS; [consultado 28 ago 2023]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/enfermedades-transmitidas-por-alimentos>
2. ELIKA Seguridad Alimentaria. *Staphylococcus aureus* [Internet]. Vitoria-Gasteiz: Elik; 2022 [consultado 28 ago 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 Rev Cient. 2024;4(1):e295. Disponible en: <https://tesla.puertomaderoeditorial.com.ar/index.php/tesla/article/view/295>
4. Márquez J, García R. Microflora patógena del queso blanco “telita” elaborado en cuatro estados de Venezuela. An Venez Nutr. 2007;20(1):17-21.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 6th ed. Wayne (PA): CLSI; 2025. (CLSI guideline VET01).
6. Alfonso-Vargas N, Aguilera-Becerra A, Jaimes-Bernal C, Pulido-Medellín M, Mosso-Arias J. Caracterización microbiológica de queso fresco artesanal distribuidos en la Hoya del Río Suárez, Colombia. Duazary. 2024;21(1):7-18. doi: 10.21676/2389783X.5534
7. Moreano J, Paredes M, Tipán L. Evaluación de la calidad microbiológica de quesos frescos comercializados en mercados populares: un riesgo para la salud pública. Rev Ecuat Hig Med Trop. 2024;15(1):45-58.
8. Ramírez-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. 2024;4(1):e294. doi: 10.56276/teslarevcienc.v4i1.294.
9. Rentería-Ortega M, Arroyo-Valdez ME, Ceja-Torres LF, Flores-Magallón A, Flores-Magallón R. Antimicrobial resistance of strains of *Staphylococcus aureus* isolated from fresh artisan cheeses. Actas Iberoam Conserv Anim. 2019;14:182-9.
10. Feijó S. Presencia de *Staphylococcus aureus* en queso fresco expendido en diferentes mercados municipales de la ciudad de Cuenca. Anat Digit. 2021;4(3.1):91-103. doi: 10.33262/anatomiadigital.v4i3.1.1849.