



UNIVERSIDAD  
CATÓLICA  
DE CUENCA

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA**

*Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo*

**UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR**

**CARRERA DE BIOFARMACIA**

**IDENTIFICACIÓN DE *Staphylococcus aureus* EN QUESOS**

**FRESCOS ARTESANALES EXPENDIDOS EN EL**

**MERCADO 12 DE ABRIL DE LA CIUDAD DE CUENCA,**

**PERÍODO ENERO 2023**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL**

**TÍTULO DE QUÍMICAS FARMACEUTAS**

**AUTORAS: ZOILA ANAHÍ ORDOÑEZ PACHAR**

**CLARA VALERIA PARRA SAMANIEGO**

**DIRECTORA: BQF. SILVIA TORRES SEGARRA, MGS.**

**CUENCA - ECUADOR**

**2023**

**DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA**

*Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo*

**UNIDAD ACADÉMICA DE SALUD Y BIENESTAR**

**CARRERA DE BIOFARMACIA**

IDENTIFICACIÓN DE *Staphylococcus aureus* EN QUESOS FRESCOS  
ARTESANALES EXPENDIDOS EN EL MERCADO 12 DE ABRIL DE  
LA CIUDAD DE CUENCA, PERÍODO ENERO 2023

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE QUÍMICAS FARMACEUTAS**

**AUTORAS: ZOILA ANAHÚ ORDOÑEZ PACHAR**

**CLARA VALERIA PARRA SAMANIEGO**

**DIRECTORA: BQF. SILVIA TORRES SEGARRA, MGS.**

**CUENCA - ECUADOR**

**2023**

**DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO**

## Declaratoria de Autoría y Responsabilidad

**Zoila Anahi Ordoñez Pachar** y **Clara Valeria Parra Samaniego** portador(a)s de las cédulas de ciudadanía N° **1150692687** y **1401296718**. Declaramos ser las autoras de la obra: “**Identificación de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales expendidos en el Mercado 12 de abril de la ciudad de Cuenca, periodo enero 2023**”, sobre la cual nos hacemos responsables sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaramos que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximimos a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaramos finalmente que nuestra obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también nos responsabilizamos y eximimos a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **15 de mayo de 2023**



**Zoila Anahí Ordoñez Pachar**

**C.I. 1150692687**



**Clara Valeria Parra Samaniego**

**C.I. 1401296718**

## CERTIFICACIÓN:

Certifico que el presente trabajo de titulación denominado “**IDENTIFICACIÓN DE *Staphylococcus aureus* EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES EXPENDIDOS EN EL MERCADO 12 DE ABRIL DE LA CIUDAD DE CUENCA, PERIODO ENERO 2023**”, realizado por **ORDOÑEZ PACHAR, ZOILA ANAHI y PARRA SAMANIEGO, CLARA VALERIA**, ha sido revisado y orientado durante su ejecución bajo el asesoramiento permanente de mi persona en calidad de Tutora, por lo que certifico que el presente documento, fue desarrollado siguiendo los parámetros del método científico, se sujeta a las normas éticas de investigación, por lo que esta expedito para su sustentación.

Cuenca,



Firma

Bqf. Silvia Monserrath Torres Segarra, Mgs.  
Bioquímica y Farmacia  
Universidad Católica de Cuenca

## DEDICATORIA

Dedico este proyecto a Dios quien es el fundamento de la fuerza y sabiduría, pues nada en el mundo sucede sin que sea su voluntad.

También dedico esta tesis a mi ángel que me cuida desde el cielo, mi abuelito Efraín, siempre te siento en mi corazón. Además, consagro este esfuerzo a mis padres y a mi familia.

*Anahí Ordoñez.*

## DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón esta tesis a mis padres, Ariosto y Clara que han luchado por mí más que nadie; a mis hermanos, que me han acompañado durante mi camino y me impulsan a seguir mejorando cada día.

A mis sobrinos, que me llenan de alegrías, no sé quién es el más travieso, pero sé que con perseverancia pueden vencer las dificultades de la vida y lograr todo aquello que se propongan.

*Clara Parra.*

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios, el cual en su infinita misericordia me permitió avanzar con éxito en la culminación de este proyecto. Él ha sido mi compañero durante toda mi vida y me ha sostenido con su amor infinito.

A mi padre Wilman, a mi madre Valeria, gracias por siempre mostrarme el camino correcto, por no apartarse de mi lado y enseñarme con amor. Ustedes siempre han estado para ayudarme cuando la vida me ha mostrado sus dificultades.

A mi abuelita Isabel que al igual que mis padres me brindó su amor incondicional; gracias por cuidar siempre de mí en todo momento que lo necesité. ¡Usted es mi segunda mamá!

A mi esposo Bryan que me ha acompañado durante este proceso. Él ha sido testigo de mis victorias y derrotas. Siempre estás para levantarme y alentarme. ¡Gracias mi amor!

A mi hermana y sobrinos, que han sido mi motivación y quienes han estado siempre para apoyarme y sacarme una sonrisa en todo momento.

A mi tutora. Bqf. Silvia Torres Mgs; este proyecto salió adelante gracias a su apoyo y consejos. ¡Gracias por brindarme su conocimiento!

Gracias infinitas a todos docentes de la Facultad de Biofarmacia, gracias por siempre brindarnos sus conocimientos y ayudarnos hacer unos grandes profesionales, ya que sin sus enseñanzas no estaríamos aquí.

Gracias a mis amigos, ustedes me han regalado momentos incomparables de alegría. Siempre me mostraron su amistad sincera e incondicional y sé que siempre van a estar cuando los necesite.

*Anahí Ordoñez.*

## AGRADECIMIENTOS

A Dios que bendice mi vida e ilumina mi camino, y quien con su gracia ha hecho posible lograr este trabajo de titulación.

A mis padres, Ariosto y Clara que con su ejemplo me han enseñado el valor de la perseverancia, esfuerzo y la superación. Su cariño y apoyo incondicional han sido el motor que me mueve para seguir adelante.

Agradezco a mis hermanos porque han sido mi soporte y me han ayudado en lo que han podido. Ustedes son un pilar importante para mi vida. A mis amigos, gracias por darme su cariño y palabras de aliento cada vez que lo necesité y por esos momentos llenos de felicidad.

A mi Alma Mater, la Universidad Católica de Cuenca, a mis docentes que han sido como una segunda familia, gracias por compartir sus conocimientos conmigo y hacerme sentir siempre bienvenida.

*Clara Parra*

## RESUMEN

**Introducción:** La seguridad alimentaria es un aspecto crítico y fundamental en el marco de la salud de la población; en el Mercado 12 de abril de la ciudad de Cuenca existen diversos comercios donde se venden productos lácteos como quesos artesanales.

**Objetivo:** Identificar *Staphylococcus aureus* en la producción de queso fresco artesanal expendidos en el Mercado 12 de abril, Cuenca.

**Materiales y métodos:** Los materiales empleados y el proceso de recolección muestral fueron procesados bajo estrictos estándares de esterilización y asepsia. Para los cultivos se utilizó placas Compact Dry X-SA que permiten el crecimiento de *S. aureus*; también se empleó ensayos confirmatorios para este mismo microorganismo (catalasa y coagulasa)

**Resultados:** De 64 muestras analizadas el 58% de las muestras obtenidas presentan contaminación por *S. aureus*, a su vez, la concentración de estos microorganismos excedió el límite máximo permisible por las normas INEN 1528:12 del Ecuador.

**Conclusión:** Se identificó *Staphylococcus aureus* en la producción de queso fresco artesanal expendidos en el Mercado 12 de abril, Cuenca.

**PALABRAS CLAVES:** *Staphylococcus aureus*, Queso, Enfermedades Transmitidas por los Alimentos, Compact Dry X-SA.

## ABSTRACT

**Introduction:** Food safety is a critical and fundamental aspect in the context of the health of the population. In the “12 de Abril” market of the city of Cuenca, there are several stores where dairy products, such as artisanal cheeses, are sold.

**Objective:** To identify *Staphylococcus aureus* in the production of fresh artisanal cheeses sold in the “12 de Abril” market, Cuenca.

**Materials and Methods:** The materials used and the sampling process were executed under strict sterilization and asepsis standards. For the cultures, Compact Dry X-SA plates were used, which allow the growth of *S. aureus*; confirmatory assays, for the same microorganism (catalase and coagulase), were also used.

**Results:** Out of 64 samples analyzed, 58% of the samples obtained showed contamination by *S. aureus*, and the concentration of these microorganisms exceeded the maximum permissible limit according to INEN 1528:12 standards in Ecuador.

**Conclusion:** *Staphylococcus aureus* was identified in the production of fresh artisanal cheese sold in the “12 de Abril” market, Cuenca.

### Keywords:

*Staphylococcus aureus*, Cheese, Foodborne Diseases, Compact Dry X-SA.

## **ABREVIATURAS**

ARCSA: Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria.

AOAC: Association of Analytical Communities.

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura.

CDC: Centro para el control y la prevención de enfermedades.

CEISH: Comités de Ética de Investigación en Seres Humanos.

ETA: Enfermedades transmitidas por alimentos.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

GAD's: Gobiernos Autónomos Descentralizados.

INEN: Instituto Ecuatoriano de Normalización.

NTE: Norma Técnica Ecuatoriana.

MIPRO: Ministerio de Industria y Productividad

MT: Ministerio de Trabajo.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

SRI: Servicio de Rentas Internas.

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| I.- INTRODUCCIÓN .....   | 1  |
| CAPÍTULO I .....   | 4  |
| PLANTEAMIENTO TEÓRICO. ....  | 4  |
| I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN .....  | 5  |
| • Situación problemática .....   | 5  |
| • Problema de investigación .....  | 6  |
| I.2.- JUSTIFICACIÓN .....  | 6  |
| I.2.1.- PREGUNTA CIENTÍFICA.....   | 7  |
| I.3.- OBJETIVOS.....   | 7  |
| I.3.1.- Objetivo General:.....   | 7  |
| I.3.2.- Objetivos Específicos: .....   | 7  |
| I.4.- MARCO TEÓRICO .....  | 7  |
| I.4.1.- Antecedentes.....  | 7  |
| I.4.2.- Marco referencial .....  | 10 |
| I.4.2.1.- Composición físico-química de la leche cruda. ....   | 10 |
| I.4.2.2.- Generalidades del queso fresco.....  | 11 |
| I.4.2.3.- Quesos artesanales, definición y proceso de manufactura en Ecuador relacionados a contaminación por <i>S. aureus</i> ..... | 11 |
| I.4.2.4.- Microbiología del queso.....   | 12 |
| I.4.2.5.- Inocuidad alimentaria. ....  | 13 |
| I.4.2.6.- Normativa INEN.....  | 14 |
| I.4.2.7.- Contaminación alimentaria. ....  | 16 |
| I.4.2.8.- Tipos de ETAs.....   | 16 |
| I.4.2.9.- Brotes de <i>S. aureus</i> causantes de ETAs.....  | 17 |

|  |    |
|--|----|
| <b>I.4.2.10.- Reporte de casos de intoxicaciones alimentarias a nivel nacional en Ecuador.</b> ..... | 18 |
| <b>I.4.2.11.- <i>Staphylococcus aureus</i>.</b> .....  | 20 |
| <b>I.4.2.12.- Taxonomía</b> .....  | 20 |
| <b>I.4.2.13.- Morfología de <i>S. aureus</i>.</b> .....  | 20 |
| <b>I.4.2.14.- Fisiopatología- mecanismos de virulencia.</b> .....                                    | 21 |
| <b>I.4.2.15.- <i>Staphylococcus aureus</i> resistencia a la meticilina.</b> .....                    | 22 |
| <b>CAPITULO II</b> .....   | 24 |
| <b>METODOLOGÍA</b> .....   | 24 |
| <b>II.1.- Diseño de la investigación.</b> .....  | 25 |
| II.1.2.- Tipo de investigación (Diseño y clasificación de Investigación).....                        | 25 |
| <b>II.2.- Universo de estudio, tratamiento muestral y muestra.</b> .....                             | 25 |
| II.2.1.- Métodos, Técnicas e instrumentos de investigación o recolección de datos.....               | 26 |
| • <b>Tipo de muestreo</b> .....  | 26 |
| • <b>Toma de muestra.</b> .....  | 26 |
| <b>II.3.- Definición y clasificación de las variables</b> .....                                      | 26 |
| <b>II.4.- Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos.</b><br>.....           | 27 |
| II.4.1.- Medios de cultivo, instrumentos y equipos .....   | 27 |
| II.4.2.- Reactivos.....  | 27 |
| II.4.3.- Diluciones .....  | 27 |
| II.4.4.- Siembra de <i>S. aureus</i> .....   | 27 |
| II.4.5.- Prueba confirmatoria – catalasa. ....   | 28 |
| II.4.6.- Prueba confirmatoria – coagulasa. ....  | 28 |
| <b>II.5.-Procedimientos estadísticos y análisis de datos</b> .....                                   | 28 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>II.6.- Aspectos éticos.....</b>               | <b>28</b> |
| <b>CAPÍTULO III.....</b>                         | <b>29</b> |
| <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>              | <b>29</b> |
| <b>III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>        | <b>30</b> |
| <b>III.1.- Resultados globales .....</b>         | <b>30</b> |
| <b>III.2.- Resultado Q1 .....</b>                | <b>31</b> |
| <b>III.3.- Resultados Q2 .....</b>               | <b>32</b> |
| <b>III.4.- Resultado Q3 .....</b>                | <b>33</b> |
| <b>III.5.- Resultado Q4 .....</b>                | <b>34</b> |
| <b>III.6.- Resultado Q5 .....</b>                | <b>35</b> |
| <b>III.7.- Resultados Q6 .....</b>               | <b>36</b> |
| <b>III.8.- Resultados Q7 .....</b>               | <b>37</b> |
| <b>III.9.- Resultado general .....</b>           | <b>38</b> |
| <b>III.10.- Resultados prueba catalasa .....</b> | <b>39</b> |
| <b>III.11.- Discusión .....</b>                  | <b>40</b> |
| <b>CAPÍTULO IV.....</b>                          | <b>41</b> |
| <b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>      | <b>41</b> |
| <b>IV.1.- CONCLUSIONES .....</b>                 | <b>42</b> |
| <b>IV.2.- RECOMENDACIONES.....</b>               | <b>43</b> |
| <b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>                        | <b>44</b> |
| <b>ANEXOS .....</b>                              | <b>49</b> |

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla 1.</b> Clasificación del queso fresco.....  | 11 |
| <b>Tabla 2.</b> Calidad microbiológica de los quesos frescos. ....   | 15 |
| <b>Tabla 3.</b> Resultados generales obtenidos en el estudio de identificación de <i>S. aureus</i> en muestras de quesos artesanales obtenidas en el mercado 12 de abril – Cuenca..... | 30 |
| <b>Tabla 4.</b> Resultados punto de venta Q1.....  | 31 |
| <b>Tabla 5.</b> Resultados punto de venta Q2.....  | 32 |
| <b>Tabla 6.</b> Resultados punto de venta Q3.....  | 33 |
| <b>Tabla 7.</b> Resultados punto de venta Q4.....  | 34 |
| <b>Tabla 8.</b> Resultados punto de venta Q5.....  | 35 |
| <b>Tabla 9.</b> Resultados punto de venta Q6.....  | 36 |
| <b>Tabla 10.</b> Resultados punto de venta Q7.....   | 37 |
| <b>Tabla 11.</b> Resultados pruebas confirmatorias.....  | 39 |

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

|  |    |
|--|----|
| <b>Gráfico 1.</b> Número de casos de intoxicaciones alimentarias bacterianas por provincia, sexo y edad en el año 2022. .... | 19 |
| <b>Gráfico 2</b> Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q1. 31  |    |
| <b>Gráfico 3</b> Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q2. 32  |    |
| <b>Gráfico 4 .</b> Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q3.<br>.....                                  | 33 |
| <b>Gráfico 5 .</b> Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q4  | 34 |
| <b>Gráfico 6</b> Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q5. 35  |    |
| <b>Gráfico 7</b> Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q6 . 36   |    |
| <b>Gráfico 8</b> Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q7 . 37   |    |
| <b>Gráfico 9</b> Porcentaje total de muestras analizadas .....   | 38 |
| <b>Gráfico 10</b> Resultados positivos para catalasa y coagulasa por <i>S.aureus</i> ....                                    | 39 |

## ÍNDICE DE ANEXOS

|   |    |
|---|----|
| <b>Anexo 1.</b> Vista general de los puntos de venta de quesos. Mercado 12 de abril ..... | 50 |
| <b>Anexo 2.</b> Recolección de muestras .....   | 50 |
| <b>Anexo 3.</b> Transporte de las muestras a temperatura 5°C.....                         | 51 |
| <b>Anexo 4.</b> Pesaje de 10 g de queso fresco .....                                      | 51 |
| <b>Anexo 5.</b> Preparación de muestras. ....   | 52 |
| <b>Anexo 6.</b> Diluciones $10^{-1}$ , $10^{-2}$ , $10^{-3}$ .....                        | 52 |
| <b>Anexo 7.</b> Siembra en placas Compac Dry X-SA.....                                    | 53 |
| <b>Anexo 8.</b> Incubación por 48h a 37°C .....   | 53 |
| <b>Anexo 9.</b> Conteo de colonias.....   | 54 |
| <b>Anexo 10.</b> Esterilización de materiales.....  | 54 |
| <b>Anexo 11.</b> Resultados Q1.....   | 55 |
| <b>Anexo 12.</b> Resultados Q2.....   | 55 |
| <b>Anexo 13.</b> Resultados Q3.....   | 55 |
| <b>Anexo 14.</b> Resultados Q4.....   | 55 |
| <b>Anexo 15.</b> Resultados Q5.....   | 56 |
| <b>Anexo 16.</b> Resultados Q6.....   | 56 |
| <b>Anexo 17.</b> Resultados Q7.....   | 56 |

## I.- INTRODUCCIÓN

En todo el mundo es necesario garantizar que exista un estándar de salubridad para la población, pues es un aspecto crítico y fundamental para la salud pública. A pesar de los esfuerzos de los gobiernos por reducir las enfermedades causadas por bacterias transmitidas por alimentos contaminados, estas siguen siendo un problema sanitario. Los microorganismos han estado presentes en la historia humana, pues se los ha utilizado en la elaboración de algunos productos como: vinos, yogures y quesos. Esto ha sido un criterio positivo desde la industria alimentaria, sin embargo, han sido los responsables de causar el deterioro de los alimentos e intoxicaciones en humanos (1).

Existe una gran diversidad de microorganismos que pueden descomponer los alimentos o contaminarlos; lo que, en consecuencia, provoca diferentes tipos de infecciones. La CDC (Centro para el control y la prevención de enfermedades) ha identificado más de 250 enfermedades transmitidas por alimentos, los cuales mayoritariamente son causados por virus, parásitos y bacterias (2).

Entre los patógenos más comunes que contaminan los alimentos y causan enfermedades están; *Norovirus*, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* y *Staphylococcus aureus*. Las intoxicaciones por estafilococos suelen presentarse con síntomas típicos de una gastroenteritis (náuseas, vómitos, diarrea y calambres estomacales). Estos se inician dentro de un periodo corto, en un lapso de dos a seis horas después de la ingestión de los alimentos en mal estado o contaminados (3).

*S. aureus* ha sido aislado de diferentes alimentos como: carne de ternera, carne de pollo, carne de cordero, leches pasteurizadas, guisos y productos de repostería (4). También ha sido encontrado en la producción de queso tradicional en la ciudad de Ankara en Turquía (5).

A nivel nacional en Ecuador en el año 2021 se registró un elevado consumo de quesos en comparación con años anteriores. Este acontecimiento se ha producido en varias provincias del país. La elaboración de derivados lácteos, por lo general, se da en regiones montañosas, lugares donde el cumplimiento de la normativa vigente es laxa o es pobremente regulada (6); esta situación se complica cuando estos productos son elaborados de forma casera. Por lo general estos alimentos son llevados a las ciudades y expendidos en plazas, mercados, tiendas y de forma ambulatoria (ventas informales).

Las instituciones reguladoras como ARCSA (Agencia de Regulación y Control Sanitario), AGROCALIDAD, INEN (Servicio Ecuatoriano de Normalización), MIPRO (Ministerio de Industria y Productividad), SRI (Servicio de Rentas Internas), MT (Ministerio de Trabajo), GAD's (Gobiernos Autónomos Descentralizados) trabajan constantemente para asegurar el bienestar de la población, velando que se cumplan las normativas mínimas de funcionamiento de un establecimiento manufacturador o expendedor de productos lácteos (6); sin embargo, es no se cumple en su totalidad.

En la provincia del Azuay, Cuenca; también se elaboran derivados lácteos y se expenden como quesos frescos manufacturados tradicionalmente. La mayoría de estos productos son adquiridos en diversos mercados de la ciudad. Por ello, y en función de las investigaciones que se han encontrado, se ve la necesidad de efectuar el estudio aquí propuesto con el fin de contribuir a la preservación de la salud de los habitantes de la ciudad de Cuenca.

La mayoría de los cuencanos desconocen si el proceso de manufactura, conservación y expendio garantizan la calidad y salubridad de los alimentos que adquieren. Entre las ferias de abastecimiento más conocidas de la ciudad de Cuenca, está el mercado 12 de abril.

Es un lugar muy concurrido por la gente local y extranjera; entre sus instalaciones podemos encontrar diversos puestos que ofrecen productos lácteos, entre ellos,

quesos frescos. Al ser un alimento altamente consumido por los cuencanos y población en general, es necesario determinar la presencia de *S. aureus* y cuantificar su concentración.

**CAPÍTULO I**  
**PLANTEAMIENTO TEÓRICO.**

## I.1.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

- **Situación problemática**

La Organización Mundial de Salud (OMS) estima que alrededor de 600 millones de personas en el mundo se enferman por consumir alimentos contaminados y 420 000 pierden la vida. La población infantil es la más afectada, especialmente aquellos menores a cinco años, ya que se producen 125 000 defunciones anuales por esta causa (7).

Las ETA's, o enfermedades transmitidas por alimentos son producto de agentes de enfermedades diarreicas, especialmente: *Norovirus*, *Campylobacter spp.*, *Salmonella entéricas*, *Salmonella typhi*, *Taenia solium*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli O157:H7*, *Shigella spp.*, *Listeria monocytogenes* y el virus de la hepatitis A que son responsables de una alta mortalidad (8).

A pesar de que *Staphylococcus aureus* puede llegar a formar parte de la flora habitual de los seres humanos, también puede ser un agente causante de transgresión alimentaria, ocasionando intoxicación en el individuo, debido a la liberación de toxinas estafilocócicas, producidas por esta bacteria (9), las cuales se acumulan en los alimentos, que al ser consumidos causan vómito, náuseas y diarrea (10). Los alimentos con más tendencia a ser colonizados por *S. aureus* son aquellos con alto contenido de sal y derivados lácteos (11).

La contaminación del queso por *Staphylococcus aureus* puede darse debido a la utilización de leche cruda como materia prima obtenida de vacas con mastitis, mala praxis en el proceso de ordeñado, o deficiencia higiénica en el personal, en materiales y equipos de trabajo utilizados en la elaboración del queso (12,13).

Por lo general, los procesos de fabricación de quesos se lleva por fuera del perímetro urbano o en pequeñas empresas familiares; en donde debido a las

malas prácticas de manufactura, escasa infraestructura y situación económica, se incumplen procesos de pasteurización de materias primas, necesarios para la eliminación de microorganismos patógenos (14,15,16). Además, el producto final difícilmente pasa por controles microbiológicos que garanticen la inocuidad de los quesos, convirtiéndolos en posibles vehículos transmisores de enfermedades alimentarias (14,16).

- **Problema de investigación**

En Ecuador, existen organismos reguladores de calidad para alimentos como la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) y documentos como la Norma Técnica Ecuatoriana para quesos frescos no madurados INEN 1528:2012, que se encargan de garantizar y controlar la inocuidad de los alimentos, sin embargo, esto no siempre se cumple, lo que pone en duda la calidad microbiológica de los quesos frescos artesanales, especialmente aquellos que se comercializan en los mercados de la ciudad de Cuenca, ya que estos en su mayoría no cuentan con su respectiva notificación sanitaria, aumentando la probabilidad de encontrar contaminación por *S. aureus*, lo que puede representar un potencial riesgo en materia de salubridad.

## **I.2.- JUSTIFICACIÓN**

La necesidad de investigar la presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales se debe a que está estrechamente relacionada con el grado de contaminación alimentaria y por tanto afectar la salud del consumidor. Consumir un alimento contaminado puede causar intoxicaciones, infecciones o toxiinfecciones alimentarias de mayor o menor gravedad, dependiendo del tipo de agentes causales, ya sean microorganismos patógenos, toxinas o ambas (10).

En el país, la producción de quesos artesanales concentra el 35% de la producción de leche, especialmente de queso fresco, debido a su aportación nutricional y bajo precio (14,17). Forma parte de la dieta de alrededor de 84,3%

de familias ecuatorianas. Este producto, al igual que muchos otros son adquiridos de manera tradicional, es decir, en tiendas de barrio y mercados tradicionales en donde es frecuente encontrar quesos frescos (17) carentes de registro sanitario, poniendo en duda su calidad microbiológica.

### **I.2.1.- PREGUNTA CIENTÍFICA**

¿Los quesos frescos artesanales expendidos en el Mercado 12 de abril de la ciudad de Cuenca presentan contaminación microbiana por *Staphylococcus aureus*?

### **I.3.- OBJETIVOS**

#### **I.3.1.- Objetivo General:**

- Identificar *Staphylococcus aureus* en quesos frescos expendidos en el Mercado 12 de abril de la ciudad de Cuenca.

#### **I.3.2.- Objetivos Específicos:**

- Demostrar la presencia de *Staphylococcus aureus* en muestras de quesos frescos artesanales mediante la técnica de placas Compact Dry X-SA.
- Cuantificar *Staphylococcus aureus* que se encuentren en las muestras de quesos frescos y determinar si cumple con los límites máximos permisibles establecidos en la norma INEN 1528:12.

### **I.4.- MARCO TEÓRICO**

#### **I.4.1.- Antecedentes**

En México, Alejo-Martínez y colaboradores analizaron muestras de queso de poro artesanal distribuidos en Balacán y Tenosique. Con respecto a *Staphylococcus aureus* obtuvieron recuentos mayores a 5,91 Log UFC/g, valores superiores a los permisibles en este país. El estudio atribuye que la posible causa

de esta contaminación se debe a la manipulación del alimento por individuos infectados, contaminación cruzada (utensilios, equipo de trabajo) mastitis o malas prácticas de ordeño (12).

Gonzales-Montiel et al. obtuvieron resultados similares a los de Alejo-Martínez con respecto a *Staphylococcus aureus*, se obtuvieron conteos de 5,76 Log UFC/g utilizando el método tradicional y de 5,98 Log UFC/g por siembra en placa Petrifilm. Dichos valores sobrepasan los 3 Log UFC/g establecidos para *Staphylococcus aureus* en la Norma Técnica mexicana para quesos (18).

En el estudio realizado por Flores et al. en Mayabeque, Cuba sobre la determinación de indicadores sanitarios en quesos frescos artesanales, se encontraron colonias de *Staphylococcus aureus* en concentraciones superiores a 4,0 Log UFC/g. Esta investigación no solo evaluó la calidad de los quesos sino también de la leche con la que estos son producidos, y obtuvo resultados interesantes, puesto que evidenciaron que existe menor contaminación en las muestras de leche que en las de queso (13).

En Quindío, Colombia, Idagarra et al. en su análisis microbiológico de quesos de cuajada indican en sus resultados que las muestras seleccionadas para esta investigación estaban contaminadas por *S. aureus* con recuentos de 6,450 Log UFC/g y 6,161 Log UFC/g (19). Mismos que sobrepasan los valores máximos permitidos en la NTC 750 establecida para quesos en este país. Por tanto, el estudio los consideró inaceptables (19).

Estudios microbiológicos se efectuaron en cuatro cantones de la provincia de Manabí, donde se evaluó la calidad sanitaria de la leche y quesos artesanales producidos en zonas rurales. En base a los resultados obtenidos, confirmaron la presencia de *Staphylococcus aureus* (5,99 Log UFC/g) en queso y (4,33 Log UFC/mL) en muestras de leche, concluyendo que no se cumplen con los

requerimientos nacionales de calidad. Es importante recalcar que el aporte de esta investigación consistió en establecer una estrecha correlación entre la contaminación del queso y la de la leche (20).

Albuja Landi et al. realizó un estudio en donde se analizó 36 muestras de quesos frescos obtenidos de queseras artesanales ubicadas en las zonas rurales de la ciudad de Riobamba y los cuales dieron positivo para la presencia de *Staphylococcus aureus*. El 83,3% de muestras no cumplen con lo establecido en Norma técnica ecuatoriana INEN 1528:12 para quesos frescos no madurados (21).

Baque y Chugchilán (2019) en la tesis de grado, cuyo título es “Evaluación de la calidad microbiológica de quesos frescos comercializados en un mercado de la provincia del Guayas y producidos en una quesera artesanal de la provincia de Chimborazo” (22), realizaron una investigación con 72 muestras y cuyos puntos de muestreo fueron: el establecimiento de producción, el vehículo de transporte a la llegada del mercado del cantón Milagro y los lugares de comercialización (22).

En los recuentos microbiológicos se utilizaron placas Petrifilm. En sus resultados, el recuento de *Staphylococcus aureus* fue de  $(5.07 \pm 0.06 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g})$ . Concluyendo que, ninguna de las muestras cumple con los requisitos de calidad microbiológica establecidos en la NTE INEN 1528 (22).

Moreno Villalobos, (2021), en la tesis de grado, titulada, “Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales comercializados en los principales mercados del cantón Durán” (23), estudió 52 muestras de tres mercados las mismas que fueron analizadas mediante placas Compact Dry X-SA. Los resultados indican 28 muestras positivas, de los cuales 17 sobrepasan

el límite máximo permitido INEN 1528:2012, mientras que el número de muestras negativas fue 24 (23).

Se concluyó que estos quesos no son aptos para la venta en los mercados del Cantón Durán, y representa un peligro para la salud de la población, debido al déficit de BPM en el momento del expendio por parte de los comerciantes de queso fresco artesanal (23).

En la ciudad de Cuenca, existen estudios desactualizados sobre el tema abordado, por tanto, se ve la necesidad de ejecutar este trabajo investigativo con la finalidad de obtener datos actualizados y de esta manera se podría beneficiar a la comunidad cuencana.

#### **I.4.2.- Marco referencial**

##### **I.4.2.1.- Composición físico-química de la leche cruda.**

Una gran variedad de productos alimenticios se elabora a partir de la leche de vaca, como el quesos, nata, mantequilla y yogur (24). Al ser este producto la materia prima necesaria para la elaboración de quesos artesanales se debe evaluar algunos factores físicos – químicos de su composición que permiten identificar deficiencias en la calidad microbiológica de la leche tales como: la acidez, cuyos valores superiores a 14° y 18° Dornic indican una alta contaminación bacteriana mientras que valores de acidez inferiores pueden ser sinónimo de afectación por mastitis bovina (25).

El pH de la leche debe acercarse a la neutralidad, con valores que oscilen entre 6.5 o 6.65; cuando estos parámetros se alteran, pueden significar daños en la glándula mamaria de la vaca (25).

#### **I.4.2.2.- Generalidades del queso fresco.**

El queso fresco también es conocido como queso blanco o de cuajada. Su principal ingrediente es leche entera o semidescremada, la cual, es sometida a procesos físicos-químicos con enzimas o ácidos orgánicos que permitirán la coagulación y el cambio de estado líquido a semisólido o sólido (26).

La consistencia de estos productos es distinta y varían por su cremosidad, textura y componentes como el porcentaje de grasa, que a su vez depende de la calidad y origen de la leche con la que fue elaborada. La siguiente (*Tabla 1*) indica los tipos de quesos frescos y la variedad en consistencias que existen de acuerdo a la normativa INEN, estos no se encuentran relacionados entre sí.

**Tabla 1.** Clasificación del queso fresco.

| <b>Contenido de Humedad</b> | <b>Contenido de grasa láctica</b> |
|-----------------------------|-----------------------------------|
| Duro                        | Rico en grasa                     |
| Semiduro                    | Entero o graso                    |
| Semiblando                  | Semidescremado o bajo en grasa    |
| Blando                      | Descremado o Magro                |

**Fuente:** Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 1528:2012 (26)

#### **I.4.2.3.- Quesos artesanales, definición y proceso de manufactura en Ecuador relacionados a contaminación por *S. aureus*.**

El queso artesanal se define como aquel que está elaborado de forma tradicional por artesanos, es decir hechos a mano o apoyados de herramientas manuales, sin recurrir a procesos industriales (27). Estos productos están elaborados con

leche cruda (sin pasteurizar) y aditivos que permitan la conglomeración de las grasas y otros componentes de su ingrediente principal. El queso artesanal tiene cerca del 25 % de materia grasa, proteínas 27%, agua 45% y 3% de sales minerales (28).

Alrededor de todo el mundo se produce la elaboración de quesos artesanales, es un proceso que permite la comercialización de la leche como subproducto. La fabricación y expendio de estos alimentos son considerados patrimonio en la gastronomía autóctona de muchos países; pues, constituyen como parte de los ingredientes clave para la elaboración de platos típicos; México es un ejemplo donde el queso ha sido utilizado de forma versátil y ha estado presente desde épocas coloniales (29).

Ecuador no es un país de producción a gran escala de quesos, sin embargo, sí es un producto que se consume de forma masiva en el país. Por lo general, la población lo adquiere como producto artesanal en los mercados de todas las ciudades. En la provincia de Manabí se realizó un estudio sobre la calidad sanitaria de lácteos. Las muestras fueron tomadas en fincas de producción artesanal. Los resultados indican que los administradores no cumplen con los requisitos de calidad higiénica. Las muestras que se obtuvieron estaban contaminadas con gran cantidad de materia biológica, entre ellas, *S. aureus*. El problema presumiblemente está relacionado con la falta de BPM (20).

#### **I.4.2.4.- Microbiología del queso.**

El queso es un ecosistema complejo en el que se desarrollan poblaciones microbianas de todo tipo, incluyendo aquellas que pueden ser patógenos. El origen de la microbiota depende de varios factores, su adición puede ser de manera intencionada como la adición del cultivo iniciador o de forma accidental durante el ordeño, procedimientos y uso de materiales. Inicialmente la leche cruda suele contener una carga microbiológica de  $5 \times 10^3$  UFC por mililitro (30).

Si la leche se conserva a temperaturas en un rango de 15-21 °C existirá un predominio de bacterias mesófilas de los géneros *Enterobacter* y *Lactococcus*; mientras que a los 4 °C prevalecerán géneros de *Flavobacterium*, *Pseudomonas* o *Acinetobacter*. Si la leche no fue sometida a procesos de pasteurización la microbiota de origen puede ser transferida a los quesos, entre ellos *Bacillus*, *Clostridium*, *Micrococcus* y *Microbacterium*, estos dos últimos inclusive pueden resultar resistentes a altas temperaturas (30).

Las bacterias ácido lácticas son organismos que están presentes en los quesos y son utilizados como cultivos iniciadores debido al papel que desempeñan en la formación del ácido láctico, por ello, contribuyen con la inhibición de otros microorganismos, coagulación y factores organolépticos. Por lo general estos son utilizados después de los procesos de pasteurización (31). En la elaboración de quesos artesanales no se implementa esta práctica en razón que trabajan con cuajos o se alega el cambio en los sabores, esto compromete la inocuidad del producto final.

#### **I.4.2.5.- Inocuidad alimentaria.**

La inocuidad alimentaria es fundamental para la buena salud y el bienestar de las personas, ya que propicia una vida sana en la población. Este ejercicio hace referencia a las medidas y condiciones que se necesita para la elaboración, envasado, almacenamiento, distribución y comercialización de alimentos (32).

La inocuidad alimentaria inclusive está vinculada con la garantía nutricional a la que cada ser humano tiene derecho, pues de ello depende el desarrollo saludable tanto físico como intelectual. Es una manera eficaz en la prevención de padecimientos producidos por la ingesta de alimentos contaminados. En consecuencia, una población sana mejora la economía gubernamental, debido a que existe un menor gasto en salud (32).

En el caso de los lácteos, la deficiencia en la higiene durante el ordeño manual favorece la presencia de patógenos que alteran el estado físico - químico del producto y sus derivados; lo que en consecuencia afecta la integridad sanitaria de la población y causa daños a los consumidores (33).

Es posible afirmar que existe seguridad alimentaria en tanto que las personas puedan permitirse acceder a alimentos inocuos y nutritivos, dentro de este aspecto también se incluye que estos se encuentren al alcance de todos y que los factores económicos y físicos no influyan en la obtención (34).

#### **I.4.2.6.- Normativa INEN.**

En el Ecuador la industria alimentaria está regida por una serie de normas, requisitos y parámetros que brindan seguridad a los consumidores. Estas legislaciones buscan precautelar la inocuidad de los alimentos durante la elaboración, conservación y expendio. En ocasiones las normativas difieren entre países, sin embargo, todas se derivan del Código Alimentario Internacional (35).

Para el control de calidad de quesos frescos, Ecuador cuenta con la normativa NTE INEN 1528:2012. En ella se detallan definiciones, guías para procedimientos microbiológicos y parámetros cuantitativos del número de colonias máximas permitidas de microorganismos por mililitro (26). La cuantificación de estas formaciones define la calidad de los productos lácteos. En la (*Tabla 2*) se resumen algunos parámetros de la legislación.

**Tabla 2.** Calidad microbiológica de los quesos frescos.

| Parámetros                           | Método           | Número de muestra a examinar (n) | Índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad (m) | Índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad (M) | Número de muestras permisibles con resultados entre m y M(c) |
|--------------------------------------|------------------|----------------------------------|--|--|--|
| <i>Escherichia coli</i> , UFC/g      | AOAC 991.14      | 5                                | <10  | 10   | 1  |
| <i>Enterobacteriaceas</i> , UFC/g    | NTE INEN 1529-13 | 5                                | 2x10 <sup>2</sup>  | 10 <sup>3</sup>  | 1  |
| <i>Salmonella</i> /25g               | NTE INEN 1529-15 | 5                                | Ausencia   | -  | 0  |
| <i>Staphylococcus aureus</i> , UFC/g | NTE INEN 1529-14 | 5                                | 10   | 10 <sup>2</sup>  | 1  |
| <i>Listeria monocytogenes</i> /25g   | ISO 11290-1      | 5                                | Ausencia   | -  | -  |

**Fuente:** Normativa Técnica Ecuatoriana INEN 1528:2012 (26)

#### **I.4.2.7.- Contaminación alimentaria.**

Una contaminación alimentaria se produce cuando existe un material anormal en un alimento; este puede ser químico, físico o biológico. Según la OMS se presentan 600 millones de casos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), lo que equivale a uno por cada diez personas en el mundo. De estos 420 mil personas fallecen; entre los cuales se hallan aproximadamente 125 mil niños menores a cinco años (36).

En honduras en el 2009 la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) señaló que cada habitante de este país sufre un cuadro de gastroenteritis alrededor de 3.5 veces al año. Es una cifra muy alarmante en comparación con los datos recolectados en EEUU a finales de los años noventa, la cual es 17 veces mayor, lo que representa 0,2 casos por habitante al año (36).

En el año 2022 en el Ecuador se notificaron 127 casos de intoxicación alimentaria. La provincia con el mayor número de sucesos fue Pichincha con 30 eventos tóxicos infecciosos. En el Azuay se reportaron 18 casos, ocupando el segundo lugar en la lista a nivel nacional; mientras que el tercer lugar lo ocupa la provincia del Guayas con 15 reportes (37).

#### **I.4.2.8.- Tipos de ETAs.**

Existen tres tipos de ETAs que pueden afectar a la salud de la población; estas dependen de la naturaleza del microorganismo patógeno y su transformación. Las infecciones e infestaciones alimentarias que ocurren cuando el propio microorganismo es transmitido por los alimentos (38).

La acción patogénica dependerá únicamente de la capacidad de virulencia que tiene procariotas; mientras que las intoxicaciones alimentarias ocurren cuando hay un producto de una acción biótica, es decir, se dan por acción de toxinas

microbianas presente en los alimentos fruto de su metabolismo y que a su vez son ingeridas por el consumidor. En esta misma línea, las toxiinfecciones es la combinación de los procesos que mencionamos; es decir, que el individuo a más de infectarse se intoxica con las sustancias producidas por las bacterias y que son liberadas en los alimentos antes de ser consumidos (38).

#### **I.4.2.9.- Brotes de *S. aureus* causantes de ETAs**

*S. aureus* ha sido causante de enfermedades transmitidas por alimentos contaminados. Hao h et al. dan a conocer un envenenamiento a gran escala por un brote de *S. aureus* en Vietnam. Señalan que las principales ETAs en ese país están relacionada con microorganismos. En el periodo entre el 2014 y 2018 la administración de Alimentos de Vietnam identificó 71 brotes de *S. aureus* (39).

En el 2018 el departamento de higiene y seguridad alimentaria de Vietnam de la provincia de Ninh Binh fue alertado por hospital perteneciente al sector sobre una gran cantidad de niños que habían sido ingresados con síntomas de gastroenteritis. Presumiblemente se intoxicaron con el almuerzo servido en el comedor escolar. El total de niños hospitalizados fue de 352. El plantel educativo estaba conformado por 926 estudiantes, por lo que los afectados representan el 38 % (39).

En Andalucía, España, a finales del 2012; las autoridades reportaron ocho casos de intoxicaciones alimentarias. El 90 % de los intoxicados estaban relacionados con el mismo restaurante. La hipótesis que manejan es que los afectados consumieron un queso de leche de oveja. Para llegar a una conclusión, las autoridades realizaron diferentes investigaciones, incluyendo a personas relacionadas al lugar y tiempo de los sucesos (40).

De 85 adultos enfermaron 48; en el proceso de la investigación se tomó muestras de los quesos y de los manipuladores del local, así también se realizaron

coprocultivos de los enfermos. Los resultados que obtuvieron indican que los individuos que consumieron el queso tuvieron un riesgo 21 veces mayor comparado con aquellos que no lo hicieron. Las muestras obtenidas del alimento revelan la presencia de enterotoxinas estafilocócicas (40).

Italia es un país productor de diversos tipos de quesos y también es uno de los que ha presentado un mayor número de muestras contaminadas con enterotoxinas estafilocócicas. Por lo general, los ciudadanos compran los quesos a vendedores locales con el objetivo de adquirir productos naturales con sabores auténticos, desconociendo si el mal proceso de elaboración está causando una contaminación biológica en el lácteo (40).

En el 2018 un hospital local notificó a las autoridades sobre un posible brote de *S. aureus*; al lugar asistió una familia con problemas gastrointestinales. Un niño (dos años), la madre (39 años) y el abuelo (78 años) presentaron calambres abdominales, vómito y diarrea; síntomas típicos de una gastroenteritis (41).

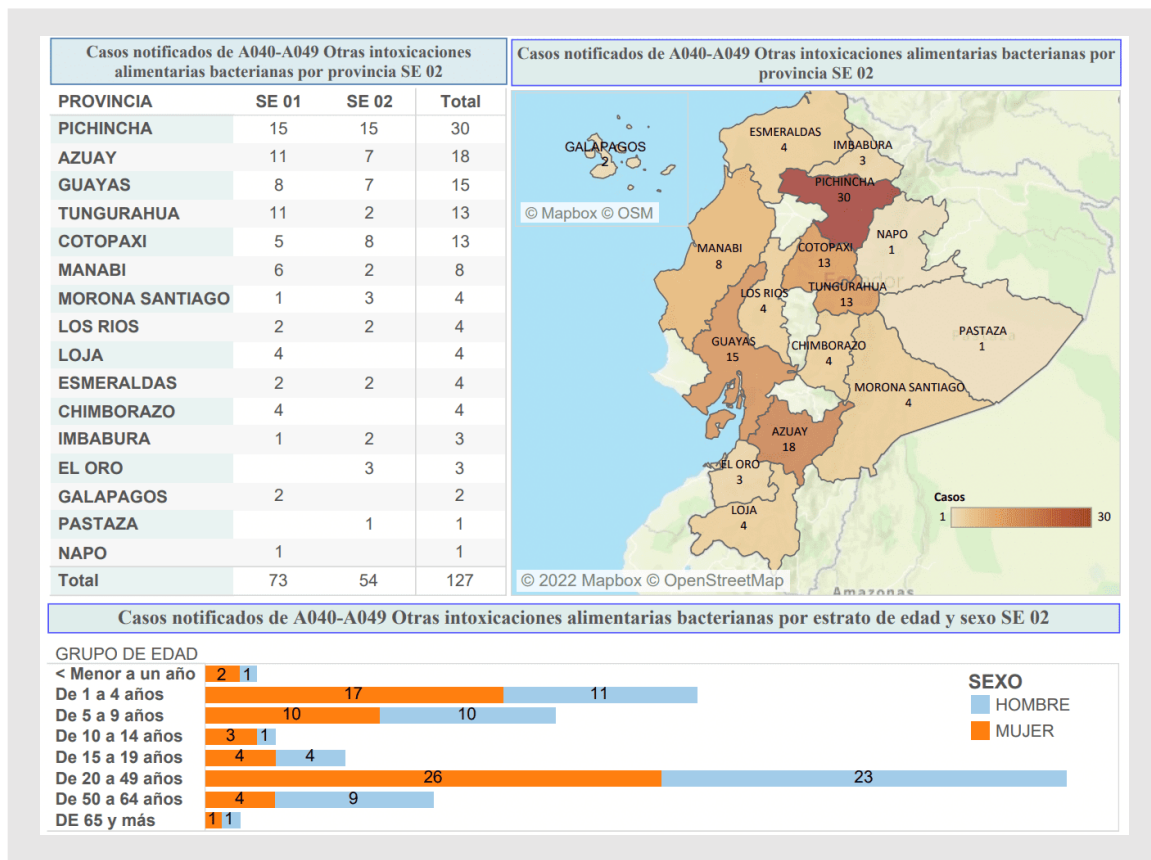
La madre refirió que los cuadros entéricos iniciaron cuatro horas después de haber consumido un queso local. El padre y dos hijas más no presentaron ninguna sintomatología y negaron el consumo del producto. Los resultados de laboratorio mostraron que el alimentos consumido estaba contaminado con enterotoxinas estafilocócicas (41).

#### **I.4.2.10.- Reporte de casos de intoxicaciones alimentarias a nivel nacional en Ecuador.**

En el año 2022 en el Ecuador se notificaron 127 casos de intoxicación alimentaria asociada a bacterias no identificadas, en las que posiblemente puede estar implicada *S. aureus*. La provincia con el mayor número de sucesos fue Pichincha con 30 eventos tóxicos infecciosos (37).

En el Azuay se reportaron 18 casos, ocupando el segundo lugar en la lista a nivel nacional; mientras que el tercer lugar lo ocupa la provincia del Guayas con 15 reportes. El grupo de edad más afectado fue de 20 a 49 años de edad, en su mayoría las de sexo femenino. La siguiente (*¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.*) resume el número de casos por provincia emitido por la Subsecretaría Nacional de Vigilancia de la Salud Pública (37).

**Gráfico 1.** Número de casos de intoxicaciones alimentarias bacterianas por provincia, sexo y edad en el año 2022.



**Fuente:** Subsecretaría Nacional de Vigilancia de Salud Pública, Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica (37).

#### **I.4.2.11.- *Staphylococcus aureus*.**

*Staphylococcus aureus* es una bacteria aerobia facultativa y fermentadora. Es capaz producir enterotoxinas que contaminan los alimentos o sustratos donde se reproducen y que, al ser ingeridas, en el caso de los alimentos, causan trastornos intestinales. En la actualidad se la ha clasificado como un microorganismo de gran interés clínico por el impacto negativo que tiene sobre la salud de la población. Algunos estudios demuestran la aparición de cepas resistentes a múltiples fármacos como la metilina (42).

Tiene una gran capacidad de adaptabilidad, pues se la ha aislado de diferentes ambientes incluyendo los intrahospitalarios. *S. aureus* ha sido autor de infecciones no complicadas y también de aquellas que comprometen la vida como bacteriemias, endocarditis y meningitis (43). El estudio de este microorganismo es importante no solo porque tiene la capacidad de invadir tejidos, sino porque también es una de las principales bacterias implicadas en enfermedades transmitidas por alimentos (44).

#### **I.4.2.12.- Taxonomía**

El Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) de EEUU clasifica a *S. aureus* como un organismo celular que pertenece al dominio de las bacterias del grupo terribacterias, fillo bacillota, subfillo bacilo, orden bacillales, familia estafilococos, género *estafilococo* y especie *Staphylococcus aureus* (45).

#### **I.4.2.13.- Morfología de *S. aureus*.**

*Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram-positiva, morfológicamente parecida a un “coco” pues sus células tienen forma esférica con un diámetro que oscila entre 0,5 y 1,0  $\mu\text{m}$ . Por lo general se organizan en grupos que dan la apariencia de racimos de uvas. En el microscopio electrónico de barrido, cada unidad celular tiene una superficie lisa con una pared celular gruesa, membrana

distintiva y citoplasma amorfo (46). *S. aureus* es un microorganismo facultativo ya que puede crecer en ambientes aeróbicos y anaeróbicos (47).

#### **I.4.2.14.- Fisiopatología- mecanismos de virulencia.**

La compleja fisiopatología de *S. aureus* se destaca por sus factores de virulencia como la presencia de polisacáridos capsulares, la formación de biopelículas, las MSCRAMM (componentes de la superficie microbiana que reconocen las moléculas de la matriz adhesiva) entre las cuales se encuentran las proteínas de unión a la fibronectina, proteínas de unión al fibrinógeno (factor clumping) y toxinas  $\alpha$  y  $\beta$  (42).

La fisiopatología de *S. aureus* está asociada a su ADN, el cual presenta secuencias de intersección (segmentos nucleotídicos con capacidad de movimiento a una posición cromosómica del mismo cromosoma u otro), bacteriófagos e islas de patogenicidad (fracción de ADN que califica al microorganismo como virulento y está contenido en plásmidos) (42).

Las islas de patogenicidad implicados en la codificación de genes para la síntesis de leucocidinas y superantígenos (enterotoxinas y endotoxinas) son vSa  $\alpha$  y vSa  $\beta$ ; (47). Mientras que, los genes asociados a la síntesis de proteínas de superficie (Enterotoxinas) son; clfA, clfB, fnbA, fnbB y fib y cna (47).

MSCRAMM son un conjunto de proteínas localizadas en la superficie celular, se encargan del reconocimiento de ciertas moléculas de la matriz adhesiva, es decir, es el mecanismo al que se encomienda de la adherencia bacteriana en la superficie celular del huésped. Las proteínas que reconocen son el colágeno, fibrinógeno, fibronectina, elastina, vitronectina, factor de von Willebrand y sialoproteína ósea (42).

Estas partículas comparten una estructura similar entre sí con un dominio A en el extremo amino terminal y una región R. En el primer dominio se encuentran tres subunidades (N1, N2, N3) donde N2 y N3 son elementales para la unión al ligando. Algunas proteínas MSCRAMM encargadas en el reconocimiento molecular son ClfA y ClfB que reconocen el fibrinógeno de las células del tejido a invadir mientras que las proteínas FnBPA y FnBPB reconocen la fibronectina del huésped (42).

La formación de biopelículas está determinada por los genes *icaA*, *icaD*, *icaC*, *bap*. Este factor de virulencia permite la invasión del microorganismo a un tejido. La adhesión marca el inicio de la formación de esta estructura; que a su vez, también está delimitado por condiciones ambientales como la temperatura, osmolaridad, pH y la presencia de hierro y oxígeno (42).

Otro factor de virulencia que tiene *S. aureus* es la secreción de la enzima coagulasa, que inclusive es utilizada como marcador diferencial para la identificación de la especie *aureus* de otras. El mecanismo de esta proteína es formar una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico, de esta manera protege la infección y a la bacteria de la fagocitosis (47).

#### **I.4.2.15.- *Staphylococcus aureus* resistencia a la meticilina.**

Existen varios estudios a nivel de Latinoamérica sobre la resistencia que presenta *S. aureus* frente a la meticilina. Este microorganismo logra contrarrestar los efectos del fármaco por la intervención del gen *mec-A*. Se han detectado cepas en quesos, carnes, sushi, entre otros. que presentan este mecanismo generando inconvenientes en el área de la salud; pues es un fármaco comúnmente utilizado en la profilaxis clínica (48).

Torres et al. indican que los productos con mayor grado de contaminación por *S. aureus* son los lácteos, lo que conlleva a que en estos alimentos existan una mayor probabilidad de cepas que contienen el gen mec-A (48).

**CAPITULO II**  
**METODOLOGÍA**

## **II.1.- Diseño de la investigación.**

**Enfoque:** Cuantitativo

**Diseño de investigación:** Descriptivo

**Nivel de investigación:** Descriptivo

### **Tipo de Investigación**

- **Por el ámbito:** De campo
- **Por la técnica:** Observacional
- **Por la temporalidad:** Transversal actual.

### **II.1.2.- Tipo de investigación (Diseño y clasificación de Investigación)**

El estudio es de carácter observacional básico. Utiliza un método descriptivo; de temporalidad prospectiva y corte transversal. Se sustituyó el método de siembra establecido en la normativa NTE INEN 1529-14:2013 por la siembra en placas Compact Dry X-SA (aprobada por Association of Analytical Communities) debido a su alta especificidad para la detección de *Staphylococcus aureus* y su corto periodo de incubación, permitiendo la rápida obtención de resultados.

## **II.2.- Universo de estudio, tratamiento muestral y muestra.**

El estudio se llevó a cabo en el Mercado 12 de abril, ubicado en la Av. Guapondelig y c/General Eloy Alfaro de la ciudad de Cuenca, con siete puntos de venta de quesos frescos; se analizaron por duplicado dando un total de 64 muestras de quesos frescos, los cuales no cuentan con registro sanitario. El muestreo se realizó los días lunes, martes, miércoles y jueves durante un mes.

### **II.2.1.- Métodos, Técnicas e instrumentos de investigación o recolección de datos.**

- **Tipo de muestreo**

El muestreo fue no probabilístico, ni aleatorio; es decir, todos los elementos de la población fueron considerados como parte de la muestra a estudiar.

- **Toma de muestra**

En un contenedor térmico con tapa previamente desinfectado con alcohol al 70% y acondicionada a una temperatura de 0 a 5°C según lo establecido en la norma NTE INEN 1529-2 se transportó 500 g de muestra de queso fresco dentro de una bolsa estéril (49).

### **II.3.- Definición y clasificación de las variables**

1. Puntos de ventas: Cualitativa nominal

Definición: Puesto de expendio de queso fresco.

Escala de medición: Puestos de venta del 1 al 7

2. Muestra de queso fresco: Cualitativa nominal

Definición: Muestra que se va a analizar en la investigación.

Escala de medición: Positivo - Negativo

3. *Staphylococcus aureus*: Cualitativa nominal

Definición: Cocos Gram positivos.

Escala de medición: Presencia - Ausencia - UFC/g

## **II.4.- Procedimientos, técnicas e instrumentos para la obtención de datos.**

### **II.4.1.- Medios de cultivo, instrumentos y equipos**

Agua peptona, Compact Dry X-SA, contenedor térmico con tapa, sustituto de hielo Coleman, bolsas estériles, cucharas estériles, mechero de alcohol, pinzas, espátula, vaso de precipitación 250 mL y 600 mL, erlenmeyer de 600 mL, tubos de ensayo, pipetas, portaobjetos, cubreobjetos, estufa, autoclave, balanza y licuadora.

### **II.4.2.- Reactivos**

Suero sanguíneo, peróxido de hidrógeno, agua destilada, solución salina, agua peptona, alcohol 70% y alcohol 96° (mecheros).

### **II.4.3.- Diluciones**

Para formar una dilución inicial se procedió a tomar 10 g de la muestra junto con 90 mL de agua peptonada, esto se logró mediante la aplicación mecánica de trituración y homogeneización con una licuadora con revoluciones e intervalos de 5 segundos en un tiempo no mayor a 2 minutos (50). El preparado obtuvo una concentración 1 en 10.

Para formar la segunda dilución con concentración 1 en 100 se recuperó 1 mL de la solución inicial y se añadió a un tubo de ensayo con 9 mL de agua peptona y se homogeneizó. Para la tercera dilución, 1 en 1000, se aplicó el mismo proceso que en las anteriores diluciones. En todo el proceso se mantuvieron condiciones de esterilidad (50).

### **II.4.4.- Siembra de *S. aureus*.**

Para el proceso de crecimiento microbiológico se empleó el método de siembra en placas Compact Dry X-SA, debido a que estas son facultativas para la multiplicación de *Staphylococcus aureus*.

La técnica consistió en aplicar 1 mL de cada dilución con la muestra integrada en cada una; se incubó a una temperatura de 37 °C por un periodo de 48 horas. Compact Dry X-SA permite la identificación de *S. aureus* ya que en ella se forman colonias de color azul (51).

#### **II.4.5.- Prueba confirmatoria – catalasa.**

Para el ensayo de catalasa se trabajó con un blanco por cada muestra recolectada; el proceso consistió en colocar una gota de peróxido de hidrógeno en un portaobjetos junto con una colonia de *S. aureus*. Si la muestra resulta positiva se producirá el desprendimiento de CO<sub>2</sub> en forma de efervescencia. Se trabajó en ambientes estériles.

#### **II.4.6.- Prueba confirmatoria – coagulasa.**

Para el ensayo de coagulasa se emplearon 200 µL de suero sanguíneo junto con una muestra representativa de colonias de *S. aureus* en un tubo de ensayo. Se procuró que el preparado sea homogéneo para ser llevado a incubación por un periodo de dos horas. Si la muestra resulta positiva, el diluido exhibirá coágulos. Este proceso se elaboró bajo condiciones estériles.

### **II.5.-Procedimientos estadísticos y análisis de datos**

Para procesar la información se utilizó un paquete de software Microsoft - Excel 2019. Los resultados obtenidos son expresados en nuestro trabajo a manera de tablas y gráficos.

#### **II.6.- Aspectos éticos**

Este proyecto no emplea muestras humanas por lo que no es necesario la aprobación de un CEISH. Sin embargo, para su realización si se obtuvo la autorización del gerente administrativo del Mercado 12 de abril, la misma que se adjunta en la sección de anexos. Ninguno de los autores de este documento tuvo conflicto de intereses durante la elaboración.

**CAPÍTULO III**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### III.1.- Resultados globales

La siguiente (*Tabla 3*) indica los resultados globales que incluye el número de muestras analizadas por cada punto de venta, de los cuales se obtuvieron el promedio de las UFC/g. También resume los resultados de los porcentajes de las muestras obtenidas en cada comercio en relación al cumplimiento con la normativa INEN 1528:12. Se indica el número de las muestras con mayor carga microbiológica y sus valores correspondientes. El 58% de muestras analizadas no cumplen con el valor establecido en la normativa vigente.

**Tabla 3.** Resultados generales obtenidos en el estudio de identificación de *S. aureus* en muestras de quesos artesanales obtenidas en el mercado 12 de abril – Cuenca.

| Punto de venta | # Número total de muestras analizadas | Promedio de <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g por punto de venta y número de muestras procesadas | % de muestras que NO cumplen con la Normativa 1528:12 | Número de la muestra con mayor carga microbiológica | Valor de la muestra con la mayor carga microbiológica en UFC/g |
|----------------|---------------------------------------|---|---|---|--|
| Q1             | 16                                    | 1,50x10 <sup>4</sup>  | 63%   | 3   | 4,57x10 <sup>4</sup>   |
| Q2             | 16                                    | 1,40x10 <sup>4</sup>  | 63%   | 4   | 3,06x10 <sup>4</sup>   |
| Q3             | 16                                    | 1,80x10 <sup>4</sup>  | 38%   | 9   | 4,03x10 <sup>4</sup>   |
| Q4             | 4                                     | 1,04x10 <sup>4</sup>  | 50%   | 4   | 1,79 x10 <sup>4</sup>  |
| Q5             | 4                                     | 3,00x10 <sup>3</sup>  | 25%   | 4   | 3,00x10 <sup>3</sup>   |
| Q6             | 4                                     | 1,76x10 <sup>4</sup>  | 100%  | 3   | 2,57 x 10 <sup>4</sup>   |
| Q7             | 4                                     | 1,39x10 <sup>4</sup>  | 75%   | 2   | 2,39 x10 <sup>4</sup>  |

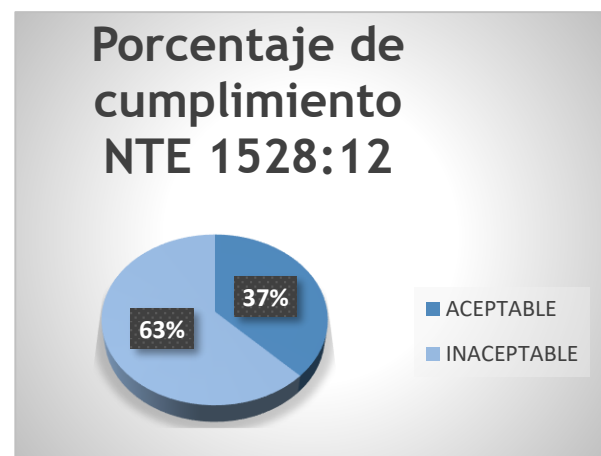
### III.2.- Resultado Q1

La siguiente tabla y gráfico resumen los resultados obtenidos para el punto de venta Q1.

**Tabla 4.** Resultados punto de venta Q1.

| Q1           |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| # de muestra | <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g |
| 1            | 3,80x10 <sup>3</sup>               |
| 2            | 2,63 x10 <sup>4</sup>              |
| 3            | 4,57x10 <sup>4</sup>               |
| 4            | APTO                               |
| 5            | APTO                               |
| 6            | 8,65 x10 <sup>3</sup>              |
| 7            | APTO                               |
| 8            | 5,45 x10 <sup>3</sup>              |
| 9            | 1,06x10 <sup>4</sup>               |
| 10           | 1,47 x10 <sup>4</sup>              |
| 11           | APTO                               |
| 12           | 6,86 x10 <sup>3</sup>              |
| 13           | 1,48 x10 <sup>4</sup>              |
| 14           | APTO                               |
| 15           | APTO                               |
| 16           | 1,34 x10 <sup>4</sup>              |

Se considera como APTO a un recuento < 30 UFC/g.



**Gráfico 2** Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q1.

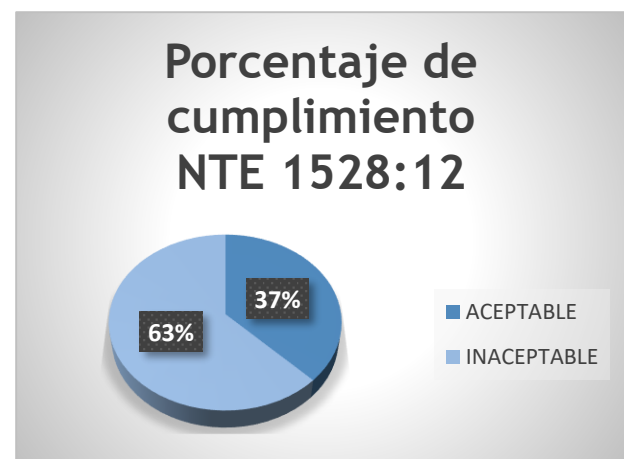
### III.3.- Resultados Q2

La siguiente Tabla y gráfico resumen los resultados obtenidos para el punto de venta Q2.

**Tabla 5.** Resultados punto de venta Q2.

| Q2           |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| # de muestra | <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g |
| 1            | APTO                               |
| 2            | APTO                               |
| 3            | 2,29 x10 <sup>4</sup>              |
| 4            | 3,06 x10 <sup>4</sup>              |
| 5            | 4,40 x10 <sup>3</sup>              |
| 6            | APTO                               |
| 7            | 2,81 x10 <sup>4</sup>              |
| 8            | 2,62 x10 <sup>4</sup>              |
| 9            | APTO                               |
| 10           | APTO                               |
| 11           | 3,30x10 <sup>3</sup>               |
| 12           | 7,41 x10 <sup>3</sup>              |
| 13           | 7,50 x10 <sup>3</sup>              |
| 14           | 3,10 x10 <sup>3</sup>              |
| 15           | 6,50 x10 <sup>3</sup>              |
| 16           | APTO                               |

Se considera como APTO a un recuento < 30 UFC/g.



**Gráfico 3** Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q2.

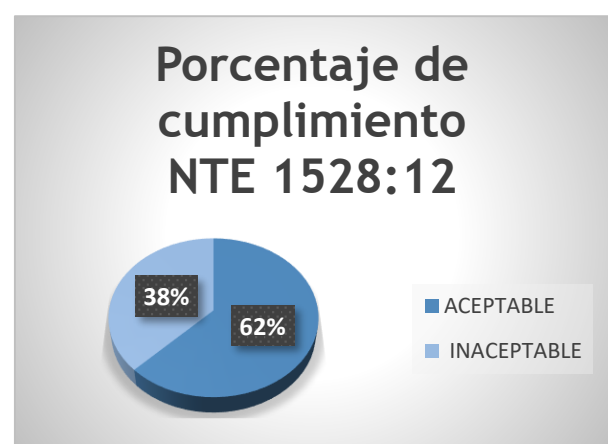
### III.4.- Resultado Q3

La Tabla 6 y el gráfico 4 resumen los resultados obtenidos para el punto de venta Q3.

**Tabla 6.** Resultados punto de venta Q3.

| Q3           |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| # de muestra | <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g |
| 1            | 3,90 x 10 <sup>3</sup>             |
| 2            | APTO                               |
| 3            | APTO                               |
| 4            | APTO                               |
| 5            | APTO                               |
| 6            | 1,46 x10 <sup>4</sup>              |
| 7            | APTO                               |
| 8            | APTO                               |
| 9            | 4,03 x10 <sup>4</sup>              |
| 10           | APTO                               |
| 11           | 4,57 x10 <sup>3</sup>              |
| 12           | APTO                               |
| 13           | APTO                               |
| 14           | 3,11 x10 <sup>4</sup>              |
| 15           | 1,36 x10 <sup>4</sup>              |
| 16           | APTO                               |

Se considera como APTO a un recuento < 30 UFC/g.



**Gráfico 4 .** Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q3.

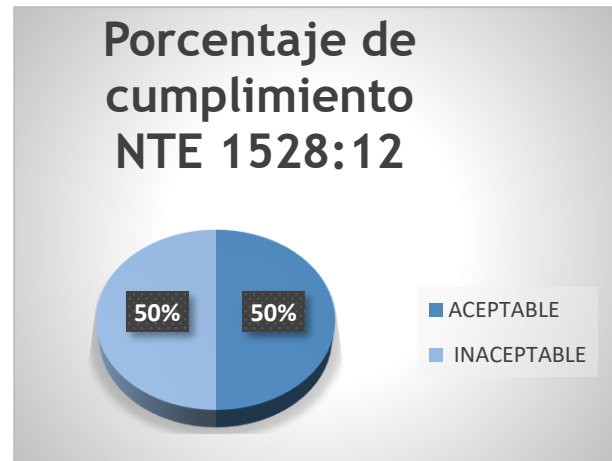
### III.5.- Resultado Q4

La siguiente Tabla 7 y el gráfico 5 resumen los resultados obtenidos para el punto de venta Q 4.

**Tabla 7.** Resultados punto de venta Q4

| Q4           |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| # de muestra | <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g |
| 1            | APTO                               |
| 2            | 3,00 x10 <sup>3</sup>              |
| 3            | APTO                               |
| 4            | 1,79 x10 <sup>4</sup>              |

Se considera como APTO a un recuento < 30 UFC/g.



**Gráfico 5 .** Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q4

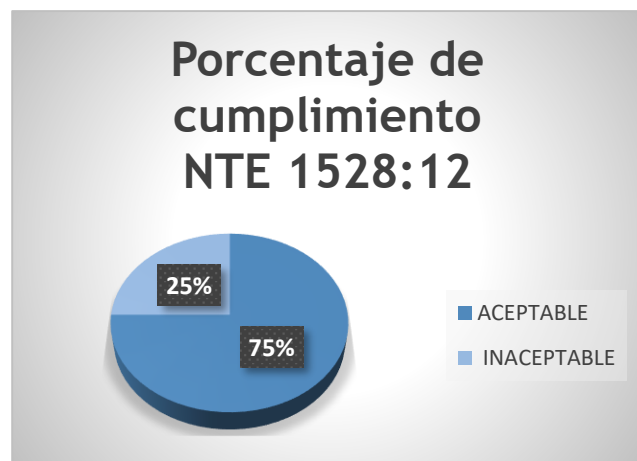
### III.6.- Resultado Q5

La tabla 8 y el gráfico 6 resumen los resultados obtenidos para el punto de venta Q5.

**Tabla 8.** Resultados punto de venta Q5.

| Q5           |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| # de muestra | <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g |
| 1            | APTO                               |
| 2            | APTO                               |
| 3            | APTO                               |
| 4            | $3,00 \times 10^3$                 |

Se considera como APTO a un recuento < 30 UFC/g.



**Gráfico 6** Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q5.

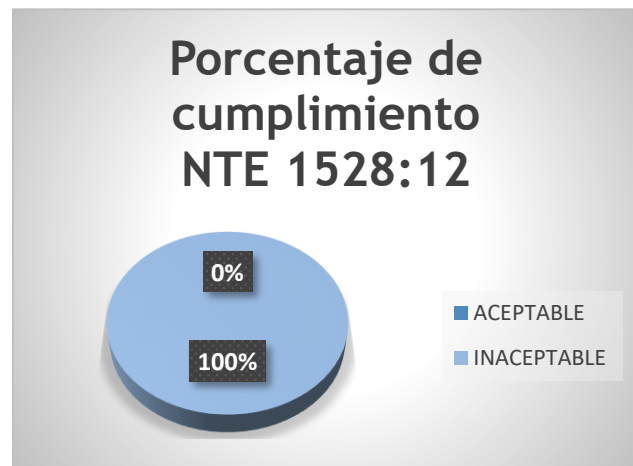
### III.7.- Resultados Q6

La tabla 9 y el gráfico 7 resumen los resultados obtenidos para el punto de venta Q6.

**Tabla 9.** Resultados punto de venta Q6.

| Q6           |                                    |
|--------------|------------------------------------|
| # de muestra | <i>Staphylococcus aureus</i> UFC/g |
| 1            | 1,66 x 10 <sup>4</sup>             |
| 2            | 1,35 x10 <sup>4</sup>              |
| 3            | 2,57 x10 <sup>4</sup>              |
| 4            | 1,46 x10 <sup>4</sup>              |

Se considera como APTO a un recuento < 30 UFC/g.



**Gráfico 7** Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q6

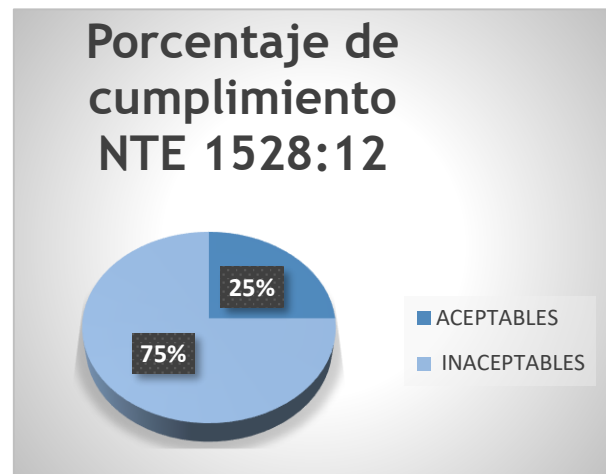
### III.8.- Resultados Q7

La tabla 10 y el gráfico 8 resumen los resultados obtenidos para el punto de venta Q7.

**Tabla 10.** Resultados punto de venta Q7.

| Q7           |                                       |
|--------------|---------------------------------------|
| # de muestra | <i>Staphylococcus aureus</i><br>UFC/g |
| 1            | 1,35 x 10 <sup>4</sup>                |
| 2            | 2,39 x10 <sup>4</sup>                 |
| 3            | 4,40 x10 <sup>3</sup>                 |
| 4            | APTO                                  |

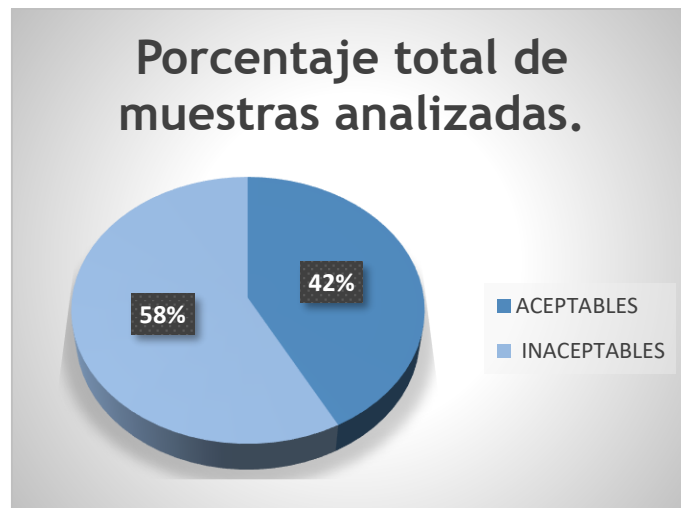
Se considera como APTO a un recuento < 30 UFC/g.



**Gráfico 8** Porcentaje de muestras aceptables e inaceptables del puesto Q7

### III.9.- Resultado general

La siguiente gráfica refleja el porcentaje total de muestras analizadas de quesos frescos expendidos en el Mercado 12 de abril, correspondiente a los puestos Q1, Q2, Q3, Q4, Q5 Q6, Q7; donde se puede observar las muestras aceptables e inaceptables.



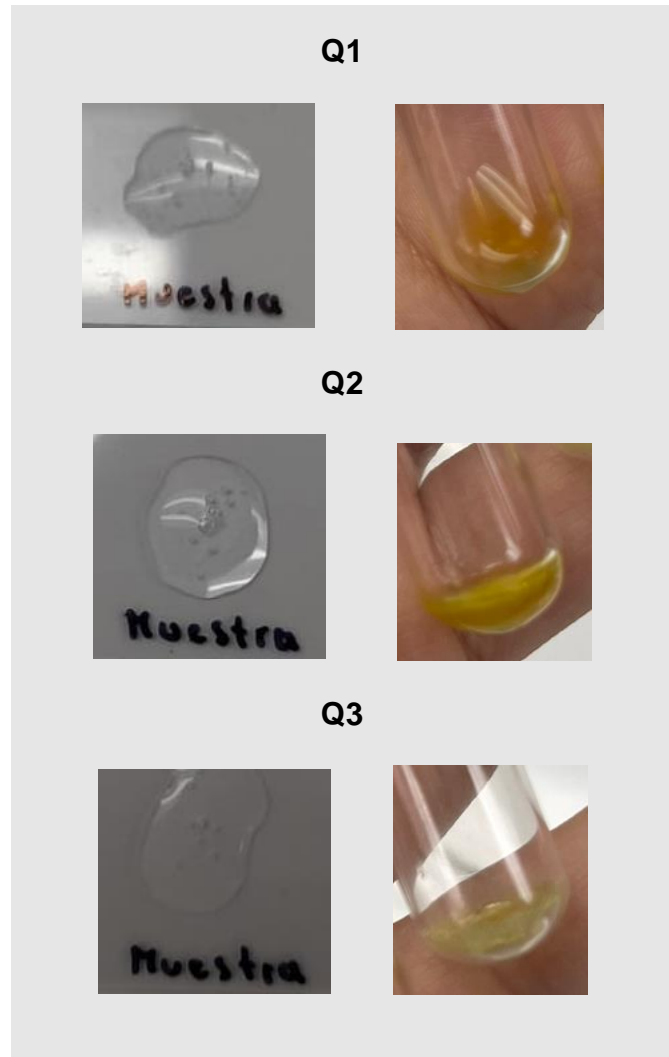
**Gráfico 9** Porcentaje total de muestras analizadas

### III.10.- Resultados prueba catalasa

La Tabla 11 y el gráfico 10 resumen los resultados obtenidos (catalasa y coagulasa) para todos los puntos de venta.

Tabla 11. Resultados pruebas confirmatorias

| Muestra | Catalasa | Coagulasa |
|---------|----------|-----------|
| Q1      | +        | +         |
| Q2      | +        | +         |
| Q3      | +        | +         |
| Q4      | +        | +         |
| Q5      | +        | +         |
| Q6      | +        | +         |
| Q7      | +        | +         |



**Gráfico 10** Resultados positivos para catalasa y coagulasa por *S.aureus*

### III.11.- Discusión

Con esta investigación se evaluó la calidad de quesos que se expende en todos los locales del Mercado 12 de abril de la Ciudad de Cuenca. Cada muestra obtenida fue examinada de forma metódica lo que permitió confirmar la presencia de *S. aureus* presente en el producto final.

En nuestro estudio analizamos 64 muestras de quesos frescos, de las cuales 58% de muestras no cumplen con el valor permitido para *S. aureus*; mientras que el 42% son muestras aceptables. Johler et al. obtuvo resultados parecidos. En su comunicado, informaron sobre estudios realizados en Italia donde determinaron y caracterizaron a *S. aureus* en leche cruda y derivados de la misma incluyendo los quesos artesanales y suero. Los datos obtenidos mostraron que, de 96 muestras de quesos artesanales, 77 dieron positivas para *S. aureus*, lo que da un 80 % de prevalencia. La investigación de Johler et al. muestra el peligro que hay ante una gran contaminación microbiológica con cepas que pueden resultar patógenas (52).

Pazmiño Bety et al, en su estudio también realizaron una investigación que permitió identificar a *S. aureus* en quesos que se expende en tres mercados de la ciudad de Milagro-Ecuador. Ellos obtuvieron 54 muestras de quesos (100%) - 18 quesos artesanales, 18 quesos pasteurizados y 18 quesos mozzarella; donde 30 (44,44%) resultaron contaminados. Todos los quesos artesanales presentaban contaminación (53).

En el mismo estudio de Pazmiño Bety et al. evaluaron y clasificaron sus muestras contaminadas según el proceso de elaboración, donde el queso artesanal representó el 100% de contaminación por *S. aureus*, el queso pasteurizado 61% y queso mozzarella el 5%; indicando que los quesos artesanales son los más propensos a contaminarse. Todas las muestras presenta una gran cantidad de carga microbiológica y no cumplen con la normativa NTE INEN 1529-14:98, 1998; NTE INEN 2584: 2013 (53).

Al comparar los datos de Pazmiño Bety et al. con nuestros resultados podemos identificar que ésta manifestación se replica no únicamente en una sola zona geográfica. En los casos de los quesos frescos notamos que en ambos estudios la contaminación está presente en todas las muestras que las representan, sin embargo, en el mercado 12 de abril de la ciudad de Cuenca, si existieron muestras que eran aptas para el consumo, situación que no se repitió en la ciudad de Milagro. En ambos estudios se concuerda que la presencia de *S. aureus* puede deberse a malas prácticas durante la elaboración y expendio de estos productos (53).

En un estudio realizado por Albuja Ana et al. en quesos de hoja -un producto lácteo típico de Ecuador- se evaluó la calidad microbiológica de estos; para esta investigación tomaron en cuenta la forma de elaboración de los quesos que fueron realizados tanto artesanalmente como de forma industrializada. El ensayo consistió en cuantificar y caracterizar fenotípicamente la microbiota de estos productos. Las muestras que emplearon fueron recolectadas de centros artesanales y plantas industrializadas específicamente de la ciudad de Latacunga. Los resultados de la calidad higiénico-sanitaria y comparada a los parámetros gubernamentales, indican que en todos los casos ninguna muestra cumplió con la normativa vigente del Ecuador, pues la concentración de coliformes, *E. coli* y *S. aureus* excede según los parámetros establecidos (54).

Si comparamos nuestros resultados con los datos de Albuja Ana et al, identificamos que este evento problemático relacionado a la salud pública y contaminación de alimentos por *S. aureus* se repite. Sin embargo, evidenciamos que en nuestro estudio a pesar de que el 100 % de las muestras fueron obtenidas de locales que expenden quesos elaborados de forma artesanal, sí existieron muestras que cumplen con la normativa vigente del Ecuador. Al igual que en todas las investigaciones que hallamos con respecto al tema de nuestra investigación, el problema se sigue identificando debido a los malos procesos de

manufactura y expendio tanto del producto terminado como del manejo principal ingrediente (leche cruda) (54).

Se ha identificado dos limitaciones con la elaboración de este proyecto, entre las cuales están, la exclusión de estudios genéticos que permitan identificar genes de virulencia presentes en nuestros cultivos y la no realización de pruebas de susceptibilidad frente a algunos antibióticos; sin embargo, se destaca la importancia de los resultados obtenidos, ya que con ellos se contribuye con la ciencia en el área de prevención y riesgos de enfermedades asociadas al consumo de alimentos; ya que estos parámetros pueden ser utilizados por las autoridades para la realización controles.

## **CAPÍTULO IV**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### IV.1.- CONCLUSIONES

- Los quesos artesanales obtenidos de siete puntos de venta en el Mercado 12 de abril de la ciudad de Cuenca, Ecuador; están contaminados con *S. aureus*. La cuantificación de estos microorganismos muestra que el 58% de muestras analizadas sobrepasa la concentración por gramo, según la normativa INEN 1528:12.
- Las placas Compact Dry-SA permitieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus* de 64 muestras con la formación de colonias azules sobre su superficie.
- Los resultados obtenidos indican malas prácticas de manufactura durante la elaboración, conservación o expendio de quesos artesanales del Mercado 12 de abril.
- Los resultados que se obtuvo de la evaluación de las muestras recolectadas en cada comercio donde se expenden quesos artesanales muestran que estos podrían no ser aptos para el consumo, ya que representan un riesgo para la población.

## IV.2.- RECOMENDACIONES

- Vigilar constantemente a los proveedores y comerciantes propios del mercado en los procesos de elaboración, conservación y expendio de productos lácteos.
- Informar a los comerciantes sobre los resultados obtenidos y realizar campañas de concientización sobre el riesgo que representan las enfermedades transmitidas por los alimentos con contaminación microbiológica.
- Realizar estudios moleculares que permitan identificar si en las muestras que se obtienen de los quesos expendidos en el mercado 12 de abril existen cepas de *S. aureus* asociados a genes que codifican para factores de virulencia.
- Aislar cepas de *S. aureus* de muestras de queso expendido en el mercado 12 de abril de la ciudad de Cuenca y realizar pruebas de susceptibilidad y medir concentraciones mínimas inhibitorias y establecer resistencia o sensibilidad frente a diferentes antibióticos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Gourama H. Foodborne Pathogens. En: Demirci A, Feng H, Krishnamurthy K, editores. Food Safety Engineering [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2020 [citado 20 de marzo de 2023]. p. 25-49. (Food Engineering Series). Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6_2)
2. CDC. Microbios y enfermedades transmitidos por los alimentos [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2021 [citado 27 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/foodborne-germs-es.html>
3. Manfredi EA, Rivas M, Manfredi EA, Rivas M. Brote de intoxicación alimentaria en un jardín de infantes de la provincia de Buenos Aires. Revista argentina de microbiología. diciembre de 2019;51(4):354-8.
4. Chaalal W, Chaalal N, Bourafa N, Kihal M, Diene SM, Rolain JM. Characterization of Staphylococcus aureus Isolated from Food Products in Western Algeria. Foodborne Pathogens and Disease. junio de 2018;15(6):353-60.
5. Kayili E, Sanlibaba P. Prevalence, characterization and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolated from traditional cheeses in Turkey. International Journal of Food Properties. 1 de enero de 2020;23(1):1441-51.
6. Siguenza ELC, Cascante GEM, Alarcón FEB, Siguenza MPC. Situational Analysis of the Production of Milk and Cheese in Several Productive Sectors of Ecuador and Its Quality Under Ecuadorian NTE INEN Regulations. ESPOCH Congresses: The Ecuadorian Journal of STEAM. 2 de septiembre de 2021;1246-77.
7. Inocuidad de los alimentos [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2020 [citado 15 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
8. Carrasco IRZ, Lozano JC. Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. Enf Infec Microbiol. 10 de abril de 2019;37(3):95-104.
9. Hurtado MP, de la Parte MA, Brito A. Staphylococcus aureus: Revisión de los mecanismos de patogenicidad y la fisiopatología de la infección estafilocócica. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. julio de 2002;22(2):112-8.
10. Hernandez Urzúa MA. Microbiología de los Alimentos. Fundamentos y aplicaciones en Ciencias de la Salud. 1.<sup>a</sup> ed. México: Editorial Médica panamericana; 2016. 240 p.
11. Gómez BJP. Presencia de Staphylococcus aureus en quesos comercializados en la Ciudad de Milagro, Octubre –Noviembre 2013. Cumbres. 2016;2(2):25-9.

12. Alejo-Martínez K, Ortiz-Hernández M, Recino-Metelín BR, González-Cortés N, Jiménez-Vera R. Tiempo de maduración y perfil microbiológico del queso de poro artesanal. 2(5):10.
13. Flores Armas Y, Armenteros Amaya M, Riverón Alemán Y, Remón Díaz D, Martínez Vasallo A, Flores Armas Y, et al. Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de los quesos frescos artesanales de la provincia Mayabeque, Cuba. Revista de Salud Animal [Internet]. agosto de 2020 [citado 27 de junio de 2022];42(2). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0253-570X2020000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0253-570X2020000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
14. Arguello P, Lucero O, Castillo G, Escobar S, Albuja A, Gallegos J, et al. CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS QUESOS ARTESANALES ELABORADOS EN ZONAS RURALES DE RIOBAMBA (ECUADOR). . ISSN. :10.
15. Pacheco JER, Sandoval LMB, Medellín MOP, Corredor DJG. Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de mercado de Tunja, Colombia. Revista Cubana de Higiene y Epidemiología [Internet]. 13 de julio de 2016 [citado 17 de diciembre de 2021];53(3). Disponible en: <http://revepidemiologia.sld.cu/index.php/hie/article/view/47>
16. Merchán N, Zurymar T S, Niño L, Urbano E, Merchán N, Zurymar T S, et al. Determinación de la inocuidad microbiológica de quesos artesanales según las normas técnicas colombianas. Revista chilena de nutrición. junio de 2019;46(3):288-94.
17. Pardillos Lara MC. El Mercado del queso en Ecuador [Internet]. 2020. Disponible en: <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/doc2020851677@a.pdf>
18. González-Montiel L, Franco-Fernández MJ. Perfil microbiológico del queso de aro consumido en la Cañada Oaxaqueña. Braz J Food Technol. septiembre de 2015;18:250-7.
19. Idarraga-Molina M, Delgado-Núñez V, León-Alfárez AM, Osorio-García JA, Idarraga-Molina M, Delgado-Núñez V, et al. Análisis microbiológico de queso cuajada en municipios del departamento del Quindío. Revista ION. junio de 2018;31(1):49-54.
20. Arteaga-Solórzano RA, Armenteros-Amaya M, Colas-Chavez M, Pérez-Ruano M, Fimia-Duarte R. Calidad sanitaria de la leche y quesos artesanales elaborados en la provincia de Manabí, Ecuador. Revista de Producción Animal [Internet]. 20 de octubre de 2021 [citado 18 de diciembre de 2021];33(3). Disponible en: <https://revistas.reduc.edu.cu/index.php/rpa/article/view/e3925>
21. Landi AA, Arrieta SE, Iñiguez LG, Leal FA, Pilamunga PY, Hernández PA. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS AISLADO EN QUESOS FRESCOS ARTESANALES ELABORADOS EN

- ZONAS RURALES DE ANTIMICROBIAL RIOBAMBA-ECUADOR. Perfiles. 31 de diciembre de 2018;2(20):76-81.
22. Baque López EJ, Chugchilan Veintimilla KP. "EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE QUESOS FRESCOS COMERCIALIZADOS EN UN MERCADO DE LA PROVINCIA DEL GUAYAS Y PRODUCIDOS EN UNA QUESERA ARTESANAL DE LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO". Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/234575614.pdf>
  23. Natalia K. ARTESANALES COMERCIALIZADOS EN LOS PRINCIPALES MERCADOS. Disponible en: <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/MORENO%20VILLALOBOS%20KATTY%20NATALIA.pdf>
  24. Uscanga-Domínguez LF, Orozco-García IJ, Vázquez-Frias R, Aceves-Tavares GR, Albrecht-Junghans RE, Amieva-Balmori M, et al. Posición técnica sobre la leche y derivados lácteos en la salud y en la enfermedad del adulto de la Asociación Mexicana de Gastroenterología y la Asociación Mexicana de Gerontología y Geriatria. Revista de Gastroenterología de México. 1 de julio de 2019;84(3):357-71.
  25. Cesar IH Julio. Elaboración de quesos. Editorial Macro; 2014. 104 p.
  26. 1528.pdf [Internet]. [citado 18 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1528.pdf>
  27. Báez-Ramírez E, Medina J, Escalona A, Rodríguez J, Olivares A. BACTERIANOS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO. :7.
  28. Alais C. Ciencia de la leche: principios de técnica lechera. Reverte; 1985. 890 p.
  29. Díaz Galindo EP, Valladares Carranza B, Gutiérrez Castillo ADC, Arriaga Jordan CM, Quintero-Salazar B, Cervantes Acosta P, et al. Caracterización de queso fresco comercializado en mercados fijos y populares de Toluca, Estado de México. Revista mexicana de ciencias pecuarias. junio de 2017;8(2):139-46.
  30. Santamarina García G, Fresno Baro JM, Virto Lecuona MD, Amores Olazaguirre G, Aranceta Bartrina J. La microbiota del queso y su importancia funcional. Revista española de nutrición comunitaria = Spanish journal of community nutrition. 2020;26(4):10.
  31. Cobo-Monterroza R, Rosas-Quijano R, Gálvez-López D, Adriano-Anaya L, Vázquez-Ovando A. Bacterias ácido lácticas nativas como cultivo iniciador para la elaboración de queso crema mexicano. Agronomía Mesoamericana. 14 de agosto de 2019;855-70.
  32. Día Mundial de la Inocuidad de los Alimentos 2021: Panorama general de la conmemoración y las actividades creativas conexas [Internet]. [citado 21 de

- marzo de 2023]. Disponible en:  
<https://www.who.int/es/publications/i/item/9789240034013>
33. Buenas prácticas de ordeño. Disponible en:  
<https://www.fao.org/3/bo952s/bo952s.pdf>
34. Fillol Mazo A. Seguridad alimentaria y derecho internacional Fillol Mazo, Adriana [Internet]. [citado 21 de marzo de 2023]. Disponible en:  
<http://www.dykinson.com/libros/seguridad-alimentaria-y-derecho-internacional/9788413248387/>
35. a0369s.pdf [Internet]. [citado 27 de marzo de 2023]. Disponible en:  
<https://www.fao.org/3/a0369s/a0369s.pdf>
36. Fernández S, Marcía J, Bu J, Baca Y, Chavez V, Montoya H, et al. Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*. 13 de mayo de 2021;5(2):2284-98.
37. Subsecretaría Nacional de Vigilancia de Salud Pública, Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. ENFERMEDADESTRANSMITIDASPORAGUAYALIMENTOSOTRASINTOXICACIONESALIMENTARIAS Ecuador, SE 02/2022 [Internet]. Ministerio de Salud Pública; 2022. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2022/02/Gaceta-General-Etas-SE-2.pdf>
38. González González E, González Carroza E. Enfermedades de Transmisión Alimentaria. Parte I. *Badajoz Veterinaria*. 2019;(16):26-33.
39. Le HHT, Dalsgaard A, Andersen PS, Nguyen HM, Ta YT, Nguyen TT. Large-Scale Staphylococcus aureus Foodborne Disease Poisoning Outbreak among Primary School Children. *Microbiology Research*. marzo de 2021;12(1):43-52.
40. Aranda Ramírez C, Marfil Navarro R, Almagro Nieves D. Estudio de distintos brotes de intoxicación alimentaria por toxina estafilocócica presente en queso curado de oveja. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*. 2016;(29):255-68.
41. Filipello V, Bonometti E, Campagnani M, Bertolotti I, Romano A, Zuccon F, et al. Investigation and Follow-Up of a Staphylococcal Food Poisoning Outbreak Linked to the Consumption of Traditional Hand-Crafted Alm Cheese. *Pathogens*. 19 de diciembre de 2020;9(12):1064.
42. Pasachova Garzón J, Ramírez Martínez S, Muñoz Molina L, Pasachova Garzón J, Ramírez Martínez S, Muñoz Molina L. Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova*. diciembre de 2019;17(32):25-38.
43. Betrán A, Lapresta C, Lavilla MJ, Abad-Díez JM, Torres L. BACTERIEMIAS POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS: FACTORES DE RIESGO

ASOCIADOS A LA RESISTENCIA A METICILINA. Revista Científica Ciencia Médica. 2020;23(1):44-51.

44. Zendejas-Manzo GS, Avalos-Flores H, Soto-Padilla MY. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades,. *Staphylococcus aureus*. 2014;25(3).
45. Schoch CL, Ciuffo S, Domrachev M, Hottel CL, Kannan S, Khovanskaya R, et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database. 1 de enero de 2020;2020:baaa062.
46. Gnanamani A, Hariharan P, Paul-Satyaseela M, Gnanamani A, Hariharan P, Paul-Satyaseela M. *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach [Internet]. *Frontiers in Staphylococcus aureus*. IntechOpen; 2017 [citado 21 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/54154>
47. Samaniego Lucas GV, Choez Jaime KE, Lucas Parrales EN. *Staphylococcus aureus*: factores asociados a su hipervirulencia y adhesión y formación de biopelículas. *Polo del Conocimiento: Revista científico - profesional*. 2021;6(9):1826-60.
48. Torres Segarra SM, Pacheco Cárdenas KE, Torres Segarra SM, Pacheco Cárdenas KE. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en alimentos. *Vive Revista de Salud*. diciembre de 2021;4(12):23-35.
49. 1529-2-1R.pdf [Internet]. [citado 18 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-2-1R.pdf>
50. 1529-14-1R.pdf [Internet]. [citado 21 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1529-14-1R.pdf>
51. compactdry-xsa [Internet]. Compact-dry Latinoamérica. [citado 21 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://compact-dry.com/productos/compactdry-xsa/>
52. Johler S, Macori G, Bellio A, Acutis PL, Gallina S, Decastelli L. Short communication: Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated along the raw milk cheese production process in artisan dairies in Italy. *Journal of Dairy Science*. 1 de abril de 2018;101(4):2915-20.
53. Pazmiño Gómez B, Núñez Rodríguez P, Coello Peralta R, Rodas Pazmiño A, Rodas Pazmiño K, Rodas Neira E, et al. Presencia de *Staphylococcus aureus* en quesos comercializados en la ciudad de Milagro, octubre – noviembre 2013. *Cumbres*. 2016;2(2):25-9.
54. Albuja Landi AK, Gallegos J, Arguello Hernández P, Vargas Vargas P. Evaluación de la calidad microbiológica del queso de hoja tradicional de Ecuador elaborado artesanal e industrialmente. *An Real Acad Farm*. 2020;117-24.

## **ANEXOS**

**Anexo 1.** Vista general de los puntos de venta de quesos. Mercado 12 de abril.



Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

**Anexo 2.** Recolección de muestras.



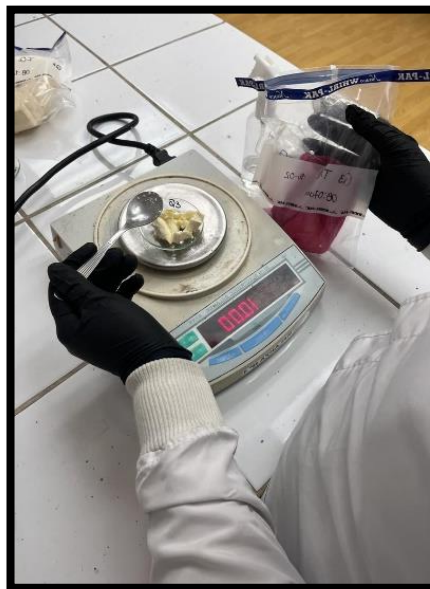
Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

**Anexo 3.** Transporte de las muestras a temperatura 5°C



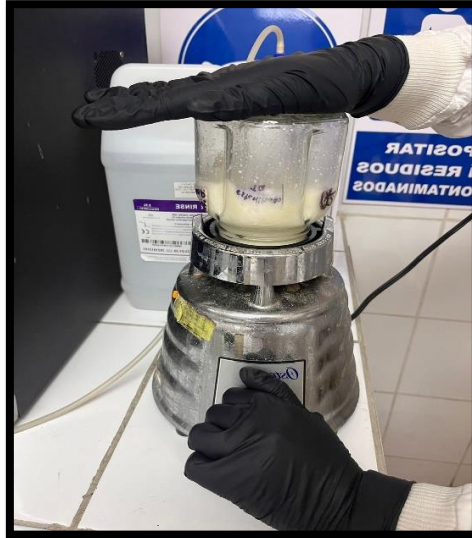
Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

**Anexo 4.** Pesaje de 10 g de queso fresco



Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

**Anexo 5. Preparación de muestras.**



Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

**Anexo 6. Diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ .**



Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

**Anexo 7. Siembra en placas Compac Dry X-SA**



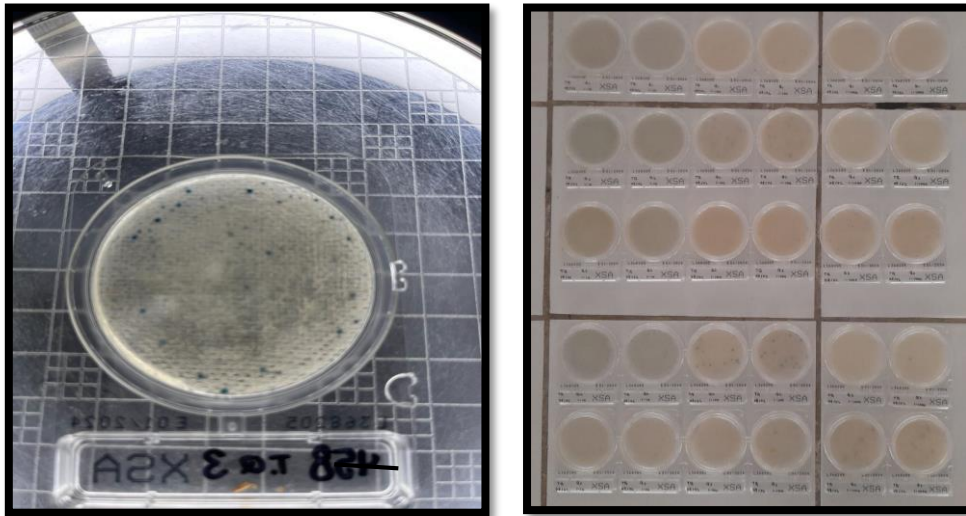
Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

**Anexo 8. Incubación por 48h a 37°C**



Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

### Anexo 9. Conteo de colonias



Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

### Anexo 10. Esterilización de materiales



Autores: Ordoñez Pachar Zoila, Parra Samaniego Clara

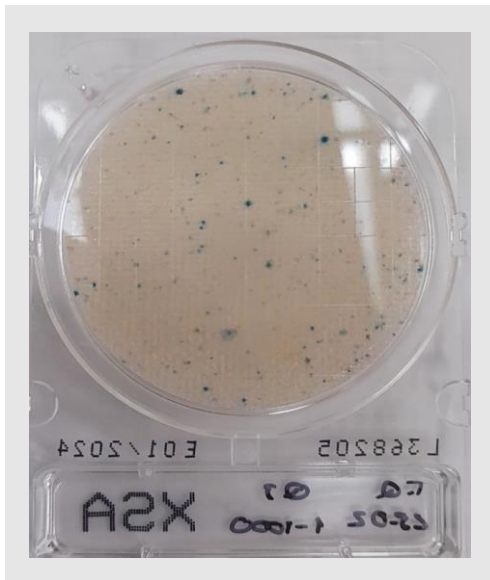
Anexo 11. Resultados Q1



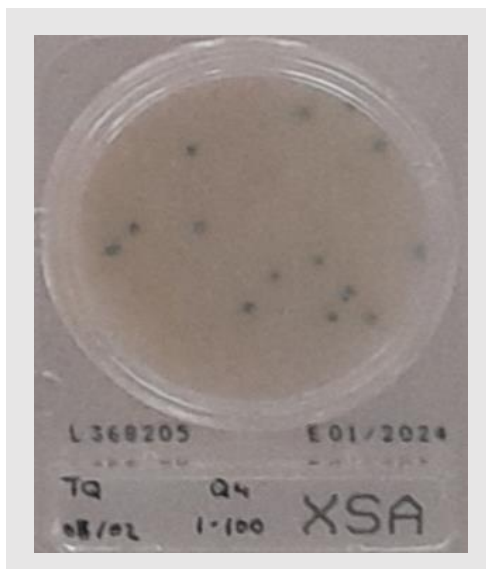
Anexo 12. Resultados Q2



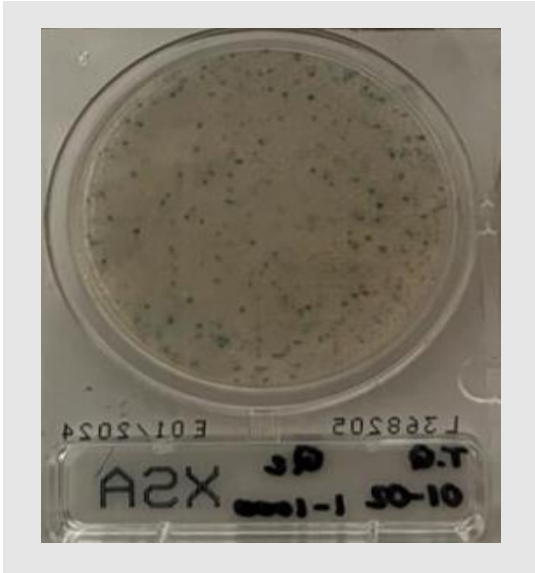
Anexo 13. Resultados Q3



Anexo 14. Resultados Q4



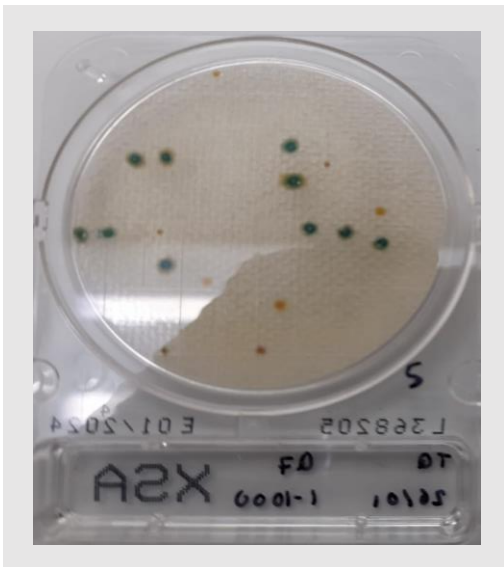
**Anexo 15. Resultados Q5**



**Anexo 16. Resultados Q6**



**Anexo 17. Resultados Q7**



## **AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

**Zoila Anahi Ordoñez Pachar y Clara Valeria Parra Samaniego** portador(a)s de las cédulas de ciudadanía N° **1150692687** y **1401296718**. En calidad de autor/as y titulares de los derechos patrimoniales del proyecto de titulación “**Identificación de *Staphylococcus aureus* en quesos frescos artesanales expendidos en el Mercado 12 de abril de la ciudad de Cuenca, periodo enero 2023**”, de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconocemos a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de éste proyecto de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **15 de mayo de 2023**



**Zoila Anahi Ordoñez Pachar**

**C.I. 1150692687**



**Clara Valeria Parra Samaniego**

**C.I. 1401296718**