

Short Note [Nota Corta]



**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF STRAINS OF
Staphylococcus aureus METHICILLIN-RESISTANT (MRSA) IN A
SAMPLE OF CHEESE ON THE MARKET IN PUERTO
ESCONDIDO, OAXACA, MEXICO †**

**[AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE
Staphylococcus aureus RESISTENTES A METACILINA (SARM)
EN UNA MUESTRA DE QUESO EN EL MERCADO EN PUERTO
ESCONDIDO, OAXACA, MÉXICO]**

**Andrea Ximena Blanco-Varillas¹, Ethan de Jesús Santiago-Onofre¹,
Luis Daniel Oliva-López¹, Margarita Bernabé-Pineda¹
and Mónica Marcela Galicia-Jimenez²**

¹Instituto de Investigación de Farmacología. Universidad de la Cañada.
Carretera Teotitlán - San Antonio Nanahuatipán Km 1.7 s/n., Paraje
Titlacuatitla. Teotitlán de Flores Magón, Oax. México, C.P. 68540,
68540 Teotitlán de Flores Magón, Oax.

²Instituto de Investigación de Genética. Universidad del Mar Campus
Puerto Escondido Ciudad Universitaria, Carretera Vía Sola de Vega,
Puerto Escondido, San Pedro Mixtepec, Juquila, Oax., México C.P.
71980. Email: mmgaliciaj@gmail.com*

*Corresponding author

SUMMARY

Background. *Staphylococcus aureus* is a Gram-positive bacterium that is part of the normal human microbiota but can act as an opportunistic pathogen, causing infections in the skin, soft tissues, and medical devices. Additionally, it is relevant in foodborne diseases (FBD). Dairy products, especially fresh cheese, are common vectors of *S. aureus*, which can develop antibiotic resistance, complicating its control and treatment. **Objective:** To isolate and characterize methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains in artisanal fresh cheese, evaluating their potential impact on food safety and public health. **Methodology:** Samples of artisanal fresh cheese were obtained from the local market in Puerto Escondido, Oaxaca, Mexico. Microbiological analyses were conducted in the Genetics Laboratory at Universidad del Mar, including Gram staining and hemolysis tests. Methicillin resistance was determined by antibiogram, and resistant strains underwent DNA extraction and amplification by PCR using specific primers. Virulence profiling was conducted via PCR targeting toxin-related genes. The reference strain *S. aureus* subsp. *aureus* (ATCC® 43300™) was used as a control. **Results:** A total of 19 *S. aureus* strains were isolated, 15 of which carried the 23S gene, while five strains exhibited virulence genes such as *ClfA*, *CoA*, and *NuC*. Additionally, enterotoxin genes were identified in seven strains (Enterotoxin E), two strains (Enterotoxin D), and four strains (Exfoliative Toxin etB). These findings confirm the presence of virulent and methicillin-resistant strains in artisanal fresh cheese. The presence of MRSA in dairy products represents a significant risk to public health and food safety. **Implications:** Study limitations include the sample size and the need for further research to assess the prevalence of these strains in other dairy products. **Conclusion:** The study highlights the importance of monitoring and controlling *S. aureus* in the food chain to prevent zoonotic disease outbreaks and ensure food safety. Molecular characterization of methicillin-resistant strains is crucial for developing effective diagnostic, treatment, and prevention strategies.

Key words: *Staphylococcus aureus*; Methicillin resistance; Food safety.

RESUMEN

Antecedentes. *Staphylococcus aureus* es una bacteria Gram positiva que forma parte de la microbiota normal en humanos, pero puede comportarse como un patógeno oportunista, causando infecciones en la

† Submitted September 3, 2024 – Accepted April 28, 2025. <https://doi.org/10.56369/tsaes.5830>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = Andrea Ximena Blanco Varillas: <http://orcid.org/0009-0006-6323-456X>; Ethan de Jesús Santiago Onofre: <http://orcid.org/0009-0007-4059-579X>; Luis Daniel Oliva López: <http://orcid.org/0009-0004-0906-0576>; Margarita Bernabé Pineda: <http://orcid.org/0009-0005-5468-6911>; Mónica Marcela Galicia-Jiménez: <http://orcid.org/0000-0001-9361-5765>

piel, tejidos blandos y dispositivos médicos. Además, es relevante en enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Los productos lácteos, especialmente el queso fresco, son vectores comunes de *S. aureus*, que puede desarrollar resistencia a antibióticos, complicando su control y tratamiento. **Objetivo:** Aislar y caracterizar cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) en queso fresco artesanal, evaluando su potencial impacto en la seguridad alimentaria y la salud pública. **Metodología:** Se adquirieron muestras de queso fresco artesanal en el mercado local de Puerto Escondido, Oaxaca, México. Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el laboratorio de Genética de la Universidad del Mar, incluyendo tinción de Gram y pruebas de hemólisis. Las cepas resistentes a meticilina se determinaron por antibiograma, y aquellas que mostraron resistencia fueron procesadas para la extracción y amplificación de ADN mediante PCR con cebadores específicos. El perfil de virulencia se determinó por PCR dirigida a genes de toxinas. Como control, se empleó la cepa de referencia *S. aureus* subsp. *aureus* (ATCC® 43300™). **Resultados:** Se aislaron 19 cepas de *S. aureus*, de las cuales 15 presentaron el gen 23S, y cinco cepas mostraron genes de virulencia como *ClfA*, *CoA* y *NuC*. Además, se identificaron genes de enterotoxinas en siete cepas (Enterotoxina E), dos cepas (Enterotoxina D) y cuatro cepas (toxina exfoliativa etB). Estos hallazgos confirman la presencia de cepas virulentas y resistentes a meticilina en el queso fresco artesanal. La presencia de *S. aureus* resistente a meticilina en productos lácteos representa un riesgo significativo para la salud pública y la seguridad alimentaria. **Implicaciones:** Las limitaciones del estudio incluyen el tamaño de la muestra y la necesidad de estudios adicionales para evaluar la prevalencia de estas cepas en otros productos lácteos. **Conclusión:** El estudio destaca la importancia de la vigilancia y control de *S. aureus* en la cadena alimentaria para prevenir brotes de enfermedades zoonóticas y garantizar la seguridad alimentaria. La caracterización molecular de cepas resistentes a meticilina es crucial para desarrollar estrategias efectivas de diagnóstico, tratamiento y prevención.

Palabras claves: *Staphylococcus aureus*; Resistencia a meticilina; Seguridad alimentaria.

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus, una bacteria Gram positiva, forma parte de la microbiota normal en los seres humanos, principalmente en la piel, la zona nasofaríngea, los pliegues inguinales y las axilas, así como en las mucosas (Harkin *et al.*, 2017). Sin embargo, cuando su entorno se altera, se comporta como un patógeno oportunista (Torres, 2006; Seija, 2006), causando una amplia variedad de enfermedades infecciosas en la piel y los tejidos blandos como músculos, tendones, tejidos grasos y vasos sanguíneos (Torres, 2006; Zendejas, 2014; Wann, 2000). Además, *S. aureus* también puede invadir dispositivos médicos (Torres, 2006; Zendejas, 2014; Wann, 2000) y ha demostrado relevancia en las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) (Torres 2021). La razón detrás de esto radica en que *S. aureus* posee una serie de factores de virulencia y patogenicidad codificados por diversos genes, que se expresan a lo largo de su ciclo de vida (Gnanamani *et al.*, 2017; Zendejas, 2014) y también tiene la capacidad de desarrollar resistencia a la mayoría de los antibióticos (Pasachova, 2019).

Los alimentos derivados de la leche representan una parte importante de la dieta humana debido a su aporte significativo en nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo (FAO, 2013). No obstante, también presentan ciertos riesgos sanitarios, ya que pueden ser vectores de enfermedades alimentarias si no se manejan con las debidas precauciones (FAO, 2024; Gould, 2014; Van, 2017).

Durante el período 2010-2014, los productos lácteos representaron un grupo de alto riesgo para brotes de enfermedades que fueron transmitidas por los alimentos (ETA'S) (Saltos *et al.*, 2018). Dentro del abanico de productos lácteos elaborados, el que cuenta con el mayor número de microorganismos patógenos al momento de su comercialización es el queso fresco (Sánchez-Valdés *et al.*, 2016). Por lo tanto, es mayormente asociado con brotes de intoxicación alimentaria (Kümmel *et al.*, 2016, Aragão *et al.*, 2021).

La bacteria *S. aureus*, identificada como el principal agente causal de la mastitis bovina, se detecta en los productos lácteos como resultado de esta enfermedad (Manjarrez *et al.*, 2012, Castañeda *et al.*, 2013). Esta es la razón principal por la que se utilizan antibacterianos para combatirla. Por lo tanto, es muy probable encontrar *S. aureus* en quesos frescos artesanales, por lo que el objetivo del artículo es el aislamiento y caracterización de cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM) aisladas de un queso fresco artesanal, por varias razones: 1) Seguridad Alimentaria: *S. aureus* puede producir toxinas que causan intoxicaciones alimentarias. La presencia de este patógeno en el queso puede representar un riesgo para la salud pública si no se detecta y controla adecuadamente. 2) Calidad del Producto: La presencia de esta bacteria en el queso puede afectar su calidad y vida útil. La caracterización molecular nos permite identificar cepas específicas y comprender su potencial impacto en la calidad del producto y 3)

Resistencia a Antibióticos, la caracterización molecular también nos ayuda a evaluar la resistencia de las cepas de *S. aureus* a meticilina, esto es crucial para garantizar que los tratamientos sean efectivos y para prevenir la propagación de cepas resistentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El queso fresco artesanal utilizado se adquirió en el mercado local ubicado en la ciudad de Puerto Escondido, municipio de San Pedro Mixtepec, en el estado de Oaxaca, México.

Análisis microbiológico

El análisis microbiológico se realizó en el laboratorio de Genética perteneciente a la Universidad del Mar Campus Puerto Escondido. Y la muestra se redujo mediante la técnica de cuarteo, tomando un gramo de la muestra y diluyendo en 9 mL de agua peptonada estéril y se realizaron diluciones seriadas con solución salina estéril, posteriormente se sembró en cajas Petri con agar sal manitol y usando la técnica por extensión por triplicado. Se realizaron observaciones en el microscopio Binocular Primo Star Hal Full-kohler Carl Zeiss para su caracterización morfológica (tinción de Gram) y se sembraron en agar sangre para la prueba de hemólisis (α , β o γ).

Resistencia a Meticilina

Las cepas que presentaron características morfológicas y bioquímicas para *S. aureus* se realizaron pruebas de resistencia al antibiótico mediante el método del antibiograma disco-placa (Hudzicki, 2009) en Agar Mueller Hinton.

Extracción de ADN

Las cepas que presentaron características morfológicas y bioquímicas a *S. aureus* y además presentaron resistencia a meticilina se extrajo el

ADN genómico para su caracterización molecular por lisis física por cinco ciclos consecutivos de congelación (20 °C) y calentamiento (65 °C) durante 3 min. Tomando 2 microlitros de los lisados para su amplificación (Galicia-Jiménez *et al.*, 2014).

Caracterización de *Staphylococcus aureus*

La caracterización de *Staphylococcus aureus* se realizó por PCR; para ello se usaron cebadores específicos descritos en la Tabla 1.

Para la amplificación se usó un termociclador BioRad®, la mezcla de reacción (50 μ L) que contenía 1X de buffer (Promega®), 0.5 mmol de $MgCl_2$ (BioTecMol), 1.25 u/ μ L TaQ polimerasa (Promega®), 0.2 mmol dNTP's (Sigma), cebadores 0.1 μ M. Para el PCR multiplex para *Staphylococcus* las muestras se sometieron a ciclos térmicos donde la temperatura de alineación fue de 94 °C durante 5 min, seguido de 30 ciclos, manteniendo desnaturalización a la misma temperatura por 1 min. Posteriormente hibridación a 64 °C por 2 min, 58 °C por 2 min y 57 °C por 2 min. Aunado a una extensión a 72 °C por 90 seg y elongación final de 72 °C por 10 min; finalmente enfriamiento a -4 °C. Posteriormente se tomaron 5 μ L de cada muestra resultante de la amplificación y se repitió el proceso con las mismas condiciones. Los productos se comprobaron por electroforesis en gel de agarosa grado analítico 2%, con buffer TAE 1X (40 mmol Tris-HCl, 1 mmol EDTA/L, 1.14 μ L/L de ácido acético glacial, pH 7.8), se cargaron 25 μ L del producto amplificado y 5 μ L de buffer de carga a 80 volts por 2 horas, finalmente se tiñó en bromuro de etidio durante 25 min y se observó el gel en el transiluminador.

Perfil de virulencia de aislamientos de *Staphylococcus aureus*

Para el perfil de virulencia de *S. aureus* se usaron cebadores específicos descritos en la Tabla 2.

Tabla 1. Cebadores para identificación de *Staphylococcus aureus*.

Gen	Cebadores	Secuencia	Pb	Referencias
23S rRNA	StaphyF	ACGGAGTTACAAAGGACGAC	1251	1
	StaphyR	AGCTCAGCCTTAACGAGTAC		
Gen factor de adhesión	clfAF	GGCTTCAGTGCTTGTAGG	900-1000	1
	clfAR	TTTTTCAGGGTCAATATAAGC		
Evasión inmunológica	CoaF	ATAGAGATGCTGGTACAGG	580-660	2
	CoaR	GCTTCCGATTGTTTCGATGC		
Termonucleasa invasión	nucF	AGTTCAGCAAATGCATCACA	400	3
	nucR	TAGCCAAGCCTTGACGAACT		

1.- El-Sayed *et al.*, (2006), 2.- Hookey *et al.*, (1998), 3.- Cremonesi *et al.* (2005)

Tabla 2. Cebadores para el Perfil de virulencia.

Gen	Cebadores	Secuencia	pb	Referencias
Enterotoxina A	seaF	GGTTATCAATGTGCGGGTGG	102	1
	seaR	CGGCACTTTTTTCTCTTCGG		
Enterotoxina B	sebF	GTATGGTGGTGTAACTGAGC	164	1
	sebR	CCAAATAGTGACGAGTTAGG		
Enterotoxina C	secF	AGATGAAGTAGTTGATGTGTATGG	451	1
	secR	CACACTTTTAGAATCAACCG		
Enterotoxina D	sedF	CCAATAATAGGAGAAAATAAAAG	278	1
	sedR	ATTGGTATTTTTTTTCGTTC		
Enterotoxina E	seeF	AGGTTTTTTTCACAGGTCATCC	209	1
	seeR	CTTTTTTTTCTTCGGTCAATC		
Toxina exfoliativa etA	etaF	GCAGGTGTTGATTTAGCATT	93	1
	etaR	AGATGTCCTTATTTTGTCTG		
Toxina exfoliativa etB	etbF	ACAAGCAAAAGAATACAGCG	226	1
	etbR	GTTTTTGGCTGCTTCTCTTG		
Toxina-1 del síndrome de choque tóxico	TSST-1	ATGGCTATATACATTCAATT	350	2
	TSST-2	TTTCCAATAACCACCCGTTT		

1.- Mehrotra *et al.* (2000), 2.- Mullarky *et al.* (2001)

Para la amplificación se empleó un termociclador BioRad®, la mezcla de reacción (50 µL) que contiene 1X de buffer, 0.5 mmol de MgCl₂, 1.25 u/µL TaQ polimerasa (Promega®), 0.2 mmol dNTP's (Sigma®), cebadores 0.08 µM. Las muestras fueron sometidas a ciclos térmicos donde la temperatura de alineación era de 94 °C durante 5 min, seguido de 30 ciclos adicionales, manteniendo desnaturalización a la misma temperatura por 2 min. Posteriormente se realizó hibridación a 55 °C por 2 min. Además de una extensión a 72 °C por 1 min y una elongación final de 72 °C por 5 min. Conservación a -4 °C. Posteriormente se tomaron 5 µL de cada muestra resultante de la amplificación y se repitió el proceso con las mismas condiciones. Los productos se comprobaron por electroforesis en gel de agarosa al 2 % con buffer TAE 1X (40 mmol Tris-HCl, 1 mmol EDTA/L, 1.14 µL/L de ácido acético glacial, pH 7.8), se cargaron 25 µL del producto amplificado y 5 µL de buffer de carga a 80 volts por 2 horas, se tiñó el gel en bromuro de etidio y finalmente se observaron las bandas resultantes en el transiluminador.

Cepa control

La cepa de referencia utilizada es *Staphylococcus aureus* subsp. aureus (ATCC® 43300™) proporcionada por el M.C. Carlos Alberto Castañón Sánchez del Hospital Regional de Alta Especialidad de Oaxaca. Una de las características importantes de *S. aureus* es su capacidad para secretar toxinas que dañan las membranas de las células del hospedero (Castañón-Sánchez, 2012) cuyas características fenotípicas y genotípicas son lukS/F-PV, *mecA*, SCC*mec* Tipo II.

RESULTADOS

Se obtuvieron 515 cepas, de las cuales se fueron descartando progresivamente según los resultados de las pruebas bioquímicas y morfológicas. En la prueba de fermentación del manitol, se excluyeron 38 cepas; en la evaluación de resistencia a antibióticos, 34 cepas fueron descartadas; en la prueba de β-hemólisis, se eliminaron 25 cepas. Finalmente, tras la tinción de Gram y el análisis de la morfología de agrupación, se descartaron 19 cepas, clasificadas como estafilococos y diplococos (Figura 1).

A las 19 cepas se extrajeron el ADN y se realizó el PCRm, (Figura 2) obteniendo 15 cepas con el gen 23S, cinco cepas presentaron los genes factor de adhesión (*ClfA*), el de evasión inmunológica (*CoA*) y la termonucleasa de invasión (*NuC*).

La detección del gen coagulasa (*CoA*) permitió diferenciar a *S. aureus* coagulasa positivo de otras especies de estafilococos coagulasa negativos. Además, revela la facultad de *S. aureus* para generar la enzima extracelular responsable de coagular el plasma. La producción de coagulasa está fuertemente correlacionada con la virulencia que ejerce el microorganismo, puesto que evita la fagocitosis de la bacteria al localizar el área infectada y crear una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico (Cervantes-García *et al.*, 2014).

El gen *clfA* codifica la proteína ClfA, que está asociada a la pared celular de la bacteria *S. aureus* y es factor importante de virulencia, ya que es el receptor de fibrinógeno de superficie celular, denominado factor de agregación y su interacción con el fibrinógeno plasmático conduce a una aglomeración bacteriana (Hartford

et al.,1997, Hawiger *et al.*,1982). El gen *nucA* que codifica para una termonucleasa extracelular (TNasa) es usada como criterio de diagnóstico de esta especie (Hamdan-Partida *et al.*, 2015).

Una vez caracterizado las cepas de *S. aureus*, las 15 cepas positivas se les realizó el PCRm para detección de genes para las enterotoxinas, obteniendo 7 cepas con Enterotoxina E, 2 con Enterotoxina D y 4 con toxina exfoliativa etB (Figura 3).

La enterotoxina estafilocócica E es un superantígeno que, como tal, posee características inmunomoduladoras, es termoestable y se produce durante la fase logarítmica del crecimiento bacteriano y es resistente a los jugos gástricos que se encuentran en el estómago de los hospedadores. Además de ser responsable de intoxicaciones alimentarias que presentan síntomas como diarrea y vómito, e incluso puede generar cuadros de enterocolitis (Alejo *et al.*, 2011, Cervantes-García *et al.*,2014).

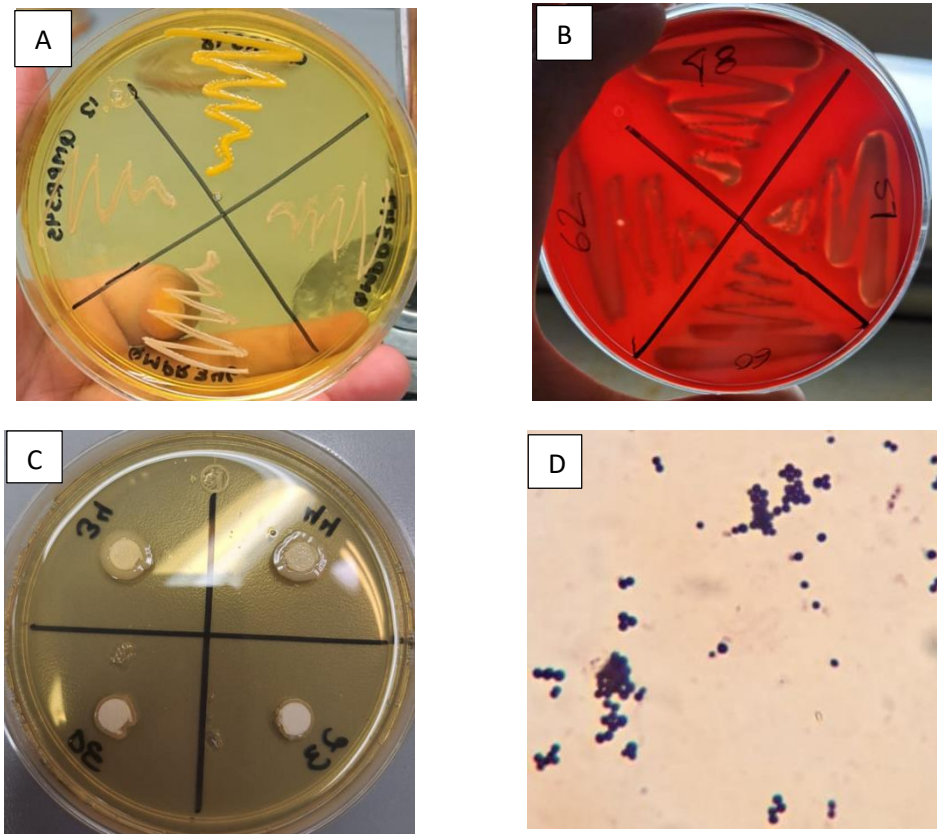


Figura 1. A) Cepas sembradas en Agar Sal y Manitol, se observa colonias amarillas indicando la fermentación del manitol. B) Agar sangre cepas observando dos tipos de hemólisis α y β . C) Antibiógrama de Meticilina en Agar Mueller Hinton, cepas con sensibilidad y resistencia al antibiótico. D) Tinción de Gram con las agrupaciones características de estafilococos y diplococos.



Figura 2. Producto de PCR multiplex para la detección de ADN perteneciente a *Staphylococcus aureus* y sus características. M. Marcador Hyperladder 1Kb, C. Cepa Control (ATCC 43300). Genes amplificados rRNA 23S (1251 pb), factor de adhesión (*ClfA*, 900 a 1000 pb), Evasión inmunológica (*CoA*, 580 a 660 pb), Termonucleasa invasión (*NuC*, 400 pb).

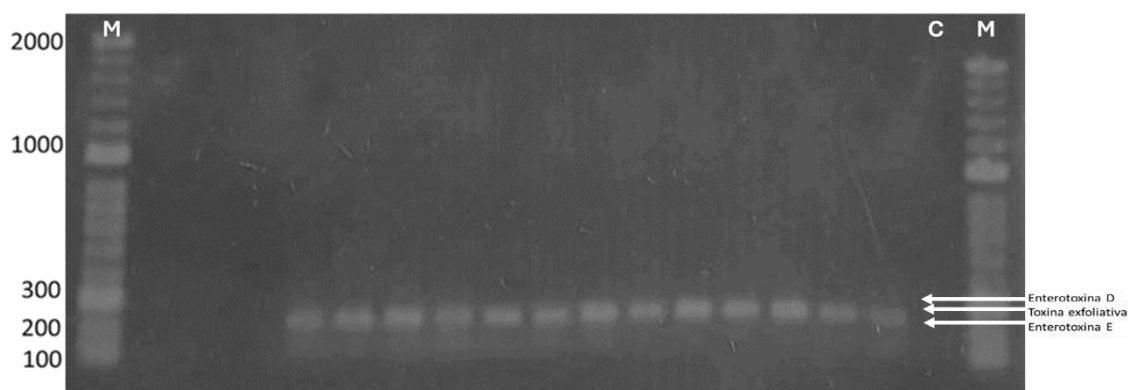


Figura 3. Producto de PCR multiplex para la detección de ADN perteneciente a enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*. M. Marcador Hyperladder 1Kb, C. Cepa Control (ATCC 43300). Genes amplificados enterotoxina D (*sed*, 278 pb), enterotoxina E (*see*, 209 pb), toxina exfoliativa B (*etB*, 226 pb).

La enterotoxina estafilocócica D se encuentra en el mismo plásmido que lleva resistencia a penicilina (Betley and Mekalanos, 1985, Bayles and Iandolo, 1989), se sintetizan en grandes cantidades durante la transición entre las fases exponencial y estacionaria de crecimiento (Bergdoll *et al.*, 1974), Las enterotoxinas A y D son las más frecuentemente asociadas con las intoxicaciones alimentarias por *S. aureus* (Bergdoll *et al.*, 1974, Zhang, *et al.*, 1998).

La toxina exfoliativa B es superantígeno, termolábil, codificada a partir de plásmidos y tiene actividad de proteasa serina, por lo que puede producir la separación de la piel desde los desmosomas, provocando cambios en la matriz intracelular en el estrato granuloso de la epidermis, originando una erupción localizada; como la denominada impétigo bulloso, o bien generalizada, como la fiebre escarlatina y el síndrome de piel escaldada (Arteaga y Arteaga, 2005, Cervantes-García *et al.*, 2014).

DISCUSIÓN

Staphylococcus aureus es un patógeno de importancia crítica para la salud pública y animal, identificado por la OMS (2024) como uno de los microorganismos prioritarios para el desarrollo de nuevos antibióticos. Su versatilidad le permite infectar tanto a seres humanos como a animales, destacándose como un agente clave en la mastitis bovina, una de las enfermedades más costosas para la industria láctea a nivel mundial (Valdez-Alarcón *et al.*, 2015).

Entre sus variantes, el *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) representa un desafío significativo debido a su resistencia a los antibióticos β -lactámicos y su notable capacidad de adaptarse a diversos hospederos (Bustos-Martínez *et al.*, 2006; Gurgua-Gutiérrez *et al.*, 2024). Por ejemplo, el queso fresco artesanal

proporciona un microambiente ideal para el crecimiento de *S. aureus* y la producción de toxinas (Gurgua-Gutiérrez *et al.*, 2024). Factores como la actividad del agua (*aw*) en un rango de 0.95-0.991 y un contenido elevado de NaCl (4.19-6.45%) favorecen estas condiciones (Alejo *et al.*, 2011). Adicionalmente, las concentraciones de calcio (15.14 ± 0.27 a 28.94 ± 0.66) regulan la virulencia bacteriana, facilitando procesos clave como la adhesión, la formación de biopelículas y la resistencia a las defensas del huésped (King *et al.*, 2020). Estas características incrementan el riesgo de infecciones persistentes y representan un serio peligro para la salud pública (Gurgua-Gutiérrez *et al.*, 2024).

El panorama epidemiológico del SARM ha cambiado drásticamente desde su identificación inicial como patógeno nosocomial (SARM-AH). Actualmente, se reconocen cepas comunitarias (SARM-AC) y variantes asociadas a la producción animal (SARM-APA), lo que evidencia su preocupante potencial zoonótico (De Leo *et al.*, 2010; Fluit, 2012). Esta evolución se manifiesta de manera notable en el sector lácteo. Estudios recientes realizados en Puerto Escondido, Oaxaca, han identificado una presencia generalizada de SARM portador del cassette SCCmec tipo IV en quesos artesanales (Gurgua-Gutiérrez *et al.*, 2024), subrayando el papel de la leche cruda como un vehículo crítico de transmisión.

La identificación de cepas de *S. aureus* con genes de virulencia como *CoA*, *ClfA*, *NuC* y enterotoxinas (E, D y exfoliativa *etB*) representa un hallazgo crucial para la salud pública. Estas cepas están asociadas a infecciones graves en humanos, incluyendo intoxicaciones alimentarias y enfermedades cutáneas. El principal medio de transferencia hacia los quesos de cepas enterotoxigénicas es por contaminación

cruzada, que generalmente ocurre a través del personal encargado de la elaboración y manipulación, así como por animales que presentan mastitis clínica o subclínica (Alejo *et al.*, 2011; Cervantes-García *et al.*, 2014). Detectar estas cepas con genes de virulencia y enterotoxinas subraya la necesidad de implementar medidas estrictas de control sanitario, con el objetivo de mitigar riesgos y proteger la seguridad alimentaria y la salud de los consumidores.

CONCLUSIONES

Staphylococcus aureus, especialmente su variante resistente a meticilina (SARM), representa un desafío significativo para la salud pública y animal debido a su capacidad de adaptación y resistencia a antibióticos. Su presencia en la industria láctea, particularmente en productos artesanales como el queso fresco, evidencia su potencial zoonótico y el riesgo de transmisión a través de la leche cruda. La identificación de cepas con genes de virulencia y la contaminación cruzada durante la manipulación de alimentos refuerzan la necesidad de medidas estrictas de control sanitario. Ante este panorama, es esencial fortalecer la vigilancia epidemiológica y la implementación de protocolos de seguridad alimentaria para mitigar riesgos y proteger a los consumidores.

Funding. The research was conducted without funding.

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflict of interest in the execution of this research work.

Compliance with ethical standards. The authors declare that they have complied with national and international regulations.

Data availability. All data is presented in the present paper.

Author contribution statement (CRediT).
A.X. Blanco-Varillas – Investigation, Methodology. **E.d.J. Santiago-Onofre** – Investigation, Methodology. **L.D. Oliva-López** – Investigation, Methodology. **M. Bernabé-Pineda** – Investigation. **M. M. Galicia-Jiménez** – Conceptualization, Investigation, Methodology, Resources, Visualization, Writing review & editing

REFERENCES

Alejo J., Cortes M., Correa D., Klotz C., Herrera C., Martínez J. and Vanegas M., 2011.

Evaluación de riesgos de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia. Instituto Nacional de Salud Subdirección de Investigación. Bogotá, Colombia.
<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Er-staphylococcus.pdf>. Fecha de consulta: 25 de abril de 2025.

Aragão, BB., Trajano, SC., da Silva, RA., e Silva, BP., de Moraes Peixoto, R. and Mota, RA., 2021, Occurrence of Multi-Resistant *Staphylococcus aureus* in Artisan Goat Coalho Cheese in Northeastern Brazil, *Acta Scientiae Veterinariae*, pp. 49.
<http://www.ufrgs.br/actavet/49/PUB%201835.pdf>

Arteaga Bonilla, R. and Arteaga Michel, R., 2005, Infecciones estafilocócicas, *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 44(3), pp 178-180. de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752005000300010&lng=es&tlang=es

Bayles KW. and Iandolo JJ., 1989. Genetic and molecular analyses of the gene encoding staphylococcal enterotoxin D. *Journal of Bacteriology*, 171(9), pp 4799-806.
<https://doi.org/10.1128/jb.171.9.4799-4806.1989>

Bergdoll MS, Czop JK. and Gould SS., 1974. Enterotoxin synthesis by the staphylococci. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 236(0), pp 307-16. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1974.tb41500.x>

Betley MJ. and Mekalanos JJ., 1985, Staphylococcal enterotoxin A is encoded by phage. *Science*, 229(4709), pp 185-7.
<https://doi.org/10.1126/science.3160112>

Bustos-Martínez JA., Hamdan-Partida A. and Gutiérrez-Cárdenas M., 2006. *Staphylococcus aureus*: the reemergence of a pathogen in the community. *Revista Biomédica*, 17(4), pp 287-305.
<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDREVISTA=90&IDARTICULO=13870&IDPUBLICACION=1432>

- Castañeda, VH., Jäger, S., Wolter, W., Zschöck, M., Castañeda, VM. and El-Sayed, A., 2013. Isolation and identification of main mastitis pathogens in Mexico. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 65: pp 377-382.
<https://www.scielo.br/j/abmvz/a/zf7V9sF6HjYtw8L3bJc95xH/?lang=en>
- Cervantes, EF., Villegas, DG., Cesín, VA. and Espinosa, OA., 2018. Los quesos mexicanos genuinos. 2ª edición. Editorial Biblioteca Básica de Agricultura. Estado de México.
- Cervantes-García E., García-González R. and Salazar-Schettino PM., 2014. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(1), 28-40.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
- Cervantes-García, E., García-González, R. and Salazar-Schettino, PM., 2014. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61 (1), 28-40.
<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=48300>
- Cremonesi, P., Luzzana, M., Brasca, M., Morandi, S., Lodi, R., Vimercati, C., Agnellini, D., Caramenti, G., Moroni, P. and Castiglioni, B., 2005. Development of a multiplex PCR assay for the identification of *Staphylococcus aureus* enterotoxigenic strains isolated from milk and dairy products. *Molecular and Cellular Probes*, 19 (5), pp 299305.
<https://doi.org/10.1016/j.mcp.2005.03.002>
- De Leo, F. R., Otto, M., Kreiswirth, B. N. and Chambers, H. F., 2010. Community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*, 375(9725), pp 1557–1568.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61999-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61999-1)
- El-Sayed, A., Alber, J., LämmLer, C., Jäger, S., Wolter, W. and Castañeda-Vázquez, H., 2006. Estudio comparativo de las características genotípicas de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de casos de mastitis clínica y subclínica en México. *Veterinaria México*, 37 (2): 165-179.
<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=8854>
- FAO [Food and Agriculture Organisation]. 2013. Milk and milk products in human nutrition. E. Muehlhoff, A. Bennett and D. McMahon. Rome. *Food and Agriculture Organisation of the United Nations*.
www.fao.org/docrep/018/i3396e/i3396e.pdf [accedido el 03/04/2024]
- FAO [Food and Agriculture Organisation]. Peligros para la salud.
<http://www.fao.org/dairy-production-products/products/peligros-para-la-salud/es/> [accedido el 03/04/2024].
- Fluit, A. C., 2012. Livestock-associated *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(8), pp. 735-744.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03846.x>
- Galicia-Jiménez M M., Rojas-Herrera R., Sandoval-Castro C., Murialdo S E., and Magaña-Sevilla H., 2014. Chemotactic responses of the rumen bacterial community towards the daidzein flavonoid. *Livestock Science*. 167, pp 121-125
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141314002583>
- Gnanamani, A., Hariharan, P. and Paul-Satyaseela, M., 2017. *Staphylococcus aureus*: Overview of Bacteriology, Clinical Diseases, Epidemiology, Antibiotic Resistance and Therapeutic Approach. *InTech*.
<https://doi.org/10.5772/67338>
- Gould LH, Mungai E. and Behravesh CB., 2014. Outbreaks attributed to cheese: differences between outbreaks caused by unpasteurized and pasteurized dairy products, United States, 1998-2011. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11(7), pp 545-51.
<https://doi.org/10.1089/fpd.2013.1650>
- Gurgua-Gutiérrez I, Galicia-Jiménez MM, Nieto-Castañeda IG, López-Garrido SJ, Rojas-Herrera RA. and Gamboa-Alvarado JG., 2024. Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus*

- SARM en quesos frescos artesanales del mercado de Puerto Escondido. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* Núm. Esp. IV, p e4064. <https://doi.org/10.19136/era.a11nIV.4064>
- Hamdan-Partida A., González García S. and Bustos-Martínez J., 2015. Identificación de *Staphylococcus aureus* utilizando como marcadores los genes *nucA* y *femB*. *Docencia e Investigación Clínica*, 16(2). pp 37-41. <https://www.elsevier.es/es-revista-ciencias-clinicas-399-articulo-identificacion-staphylococcus-aureus-utilizando-como-S166513831600015X>
- Harkins CP, Pichon B, Doumith M, Parkhill J, Westh H, Tomasz A, de Lencastre H, Bentley SD, Kearns AM. and Holden MT., 2017. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* emerged long before the introduction of methicillin into clinical practice. *Genome Biology*, 18(1), pp 130. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1252-9>
- Hartford O, Francois P, Vaudaux P. and Foster TJ., 1997. The dipeptide repeat region of the fibrinogen-binding protein (clumping factor) is required for functional expression of the fibrinogen-binding domain on the *Staphylococcus aureus* cell surface. *Molecular Microbiology*, 25(6), pp 1065-76. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1997.5291896.x>
- Hawiger J, Timmons S, Strong DD, Cottrell BA, Riley M. and Doolittle RF., 1982. Identification of a region of human fibrinogen interacting with staphylococcal clumping factor. *Biochemistry*, 21(16), pp 1407-13. <https://doi.org/10.1021/bi00535a047>
- Hookey JV, Richardson JF. and Cookson BD., 1998. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(4), pp 1083-9. <https://doi.org/10.1128/jcm.36.4.1083-1089.1998>
- Hudzicki, J., 2009. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American Society for Microbiology*, 15(1), 1-23. <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol-pdf.pdf>
- King MM, Kayastha BB, Franklin MJ. and Patrauchan MA., 2020 Calcium regulation of bacterial virulence. In: Islam M (eds) *Calcium signaling. Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1131. Springer, Cham. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-12457-1_33 Fecha de consulta: 25 de abril de 2025.
- Kümmel J., Stessl B, Gonano M., Walcher G., Bereuter O., Fricker M., Grunert T., Wagner M. and Ehling-Schulz M., 2016. *Staphylococcus aureus* Entrance into the Dairy Chain: Tracking *S. aureus* from Dairy Cow to Cheese. *Front Microbiology*, 7, pp. 1603. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5061776/pdf/fmicb-07-01603.pdf>
- Manjarrez López, AM., Díaz Zarco, S., Salazar García, F., Valladares Carranza, B., Gutiérrez Castillo, AdC., Barbabosa Pliego, A., Talavera Rojas, M., Alonso Fresán, MU. and Velázquez Ordoñez, V., 2012. Identificación de biotipos de *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras de producción familiar con mastitis subclínica en la región centro-este del Estado de México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3(2), 265-274. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242012000200008&lng=es&tlng=es
- Mehrotra, M., Wang, G. and Johnson., W. M., 2000. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *Journal of Clinical Microbiology*, 38 (3), 1032-1035. <https://doi.org/10.1128/jcm.38.3.1032-1035.2000>
- Mullarky, IK., Su, C., Frieze, N., Park, YH. and Sordillo, LM., 2001. *Staphylococcus aureus* agr Genotypes with Enterotoxin Production Capabilities Can Resist Neutrophil Bactericidal Activity. *Infection and Immunity*, 69(1), pp 45-51.

- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC97853/>
- OMS (2024). La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. Fecha de consulta: 18 de abril de 2025.
- Pasachova Garzón J, Ramírez Martínez S, Muñoz Molina L, Pasachova Garzón J, Ramírez Martínez S. and Muñoz Molina L., 2019. *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova*, 17(32), pp 25-38. <https://doi.org/10.25058/24629448.3631>
- Salto, SJ., Márquez, BY., López, A. A., Martínez, AJ. and Guerrero, PD., 2018. La implementación de procedimientos estandarizados en la prevención de enfermedades transmitidas por los alimentos. Conteo microbiológico del *Staphylococcus aureus* en quesos frescos. *Revista Médica Electrónica*, 40(2), pp 371-382. <http://scielo.sld.cu/pdf/rme/v40n2/rme130218.pdf>
- Sánchez-Valdés, JJ., Colín-Navarro, V., López-González, F., Avilés-Nova, F., Castelán-Ortega, OA., and Estrada-Flores, JG., 2016. Diagnóstico de la calidad sanitaria en las queserías artesanales del municipio de Zacazonapan, Estado de México. *Salud pública de México*, 58, pp 461-467. <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v58n4/0036-3634-spm-58-04-00461.pdf>
- Seija V. 2006 Género *Staphylococcus* Flora normal en Etiopatogenia microbiológica Género *Staphylococcus*. Temas de Bacteriología y Virología Médica. 2nd ed. FEFMUR; pp259-266.
- Torres M. 2006. Interacciones huésped-parásito. Flora normal en Etiopatogenia microbiológica Género *Staphylococcus*. Temas de Bacteriología y Virología Médica. 2nd ed. FEFMUR; pp259-266.
- Torres Segarra, SM., and Pacheco Cárdenas, KE., 2021. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en alimentos. *Vive Revista de Salud*, 4(12), pp 23-35.. <https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i12.106>
- Valdez-Alarcón, J. J., Bustos Martínez, J., Baizabal Aguirre, V. M., Bravo-Patiño, A., Moctezuma, M. and Juárez, M., 2015. *Staphylococcus aureus* asociado a la mastitis bovina: un enfoque epidemiológico – funcional. En H. Castañeda Vázquez, V. Velázquez Ordoñez, W. Wolter, J. Svarc Gajic, C. Bedolla Cedeño, and J. E. Guerra Liera (Eds.), *Producción y calidad de la leche* (pp. 257-272). Primera edición.
- van Asselt ED., van der Fels-Klerx HJ., Marvin HJ., van Bokhorst-van de Veen H. and Groot MN., 2017. Overview of Food Safety Hazards in the European Dairy Supply Chain. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), pp 59-75. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12245>
- Wann E, Gurusiddappa S. and Hook M., 2000. The fibronectin-binding MSCRAMM FnbpA of *Staphylococcus aureus* is a bifunctional protein that also binds to fibrinogen. *Journal of Biological Chemistry*, 275(18), pp 13863–13871. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.18.13863>
- Zendejas G., Avalos H. and Soto M., 2014. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 25(3), pp 129-14. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v25i3.42>
- Zhang, S., Iandolo, JJ. and Stewart, GC., 1998. The enterotoxin D plasmid of *Staphylococcus aureus* encodes a second enterotoxin determinant (sej). *FEMS Microbiology Letters*, 168, pp 227-233 <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1998.tb13278.x>