

ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF STRAINS OF *Staphylococcus aureus* ISOLATED FROM FRESH ARTISAN CHEESES

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* AISLADAS DE QUESOS FRESCOS ARTESANALES

Renteria-Ortega M.¹, Arroyo-Valdez M.E.¹, Ceja-Torres L.F.¹, Flores-Magallon A.², Flores-Magallon R.^{1*}

¹Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Michoacán. Justo Sierra Ote. 28, Centro, CP 59510 Jiquilpan de Juárez, Michoacán, MEXICO. *rbk_fm@hotmail.com.

²Brigada de Educación para el Desarrollo Rural No 63, Lázaro Cárdenas No 9, 2do Piso. Villamar, Michoacán, MEXICO.

Keywords: Cheeses; Susceptibility; Antimicrobials.

Palabras clave: Quesos; Susceptibilidad; Antimicrobianos.

ABSTRACT

Several investigations have demonstrated the emergence of multi-resistant strains in nature, which represents a potential risk to human health. The objective was to determine the antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* of strains isolated from fresh handmade cheeses. A total of 95 pieces of cheese from the region of origin in the states of Jalisco and Michoacán were analyzed. The identification of *S. aureus* was by official methods. The susceptibility tests and antimicrobial resistance was by the method of diffusion of disc in agar, using multidisk of trimethoprim (TMP 25 µg), vancomycin (VAN 30 µg), oxytetracycline (OXT 30 µg), penicillin (PSU 10 IU), amoxicillin (AMX 25 µg), lincomycin (SCI 2 µg), sulfadiazine (FE 300 µg), fluorphenicol (FFC 30 µg), ampicillin (AM 500 µg) and streptomycin (EXT 10 µg). 93.68% of the cheeses analyzed were positive for the presence of *S. aureus* and only 6.32% were negative. Of the 89 strains isolated, 23 showed resistance to at least one antimicrobial, with strains 47, 58, 86 and 89 being the most resistant to TMP, OXT, PSU, AMX and AM. The highest number of resistant strains were for the β-lactam PSU (80), OXT (45) and AMX (34), so that the resistance percentages were the highest.

RESUMEN

Diversas investigaciones han demostrado la aparición de cepas multirresistentes en la naturaleza, lo que representa un riesgo potencial para la salud humana. El objetivo fue determinar la resistencia antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de quesos frescos artesanales. Se analizaron un total de 95 piezas de quesos de la región de origen en los estados de Jalisco y Michoacán. La identificación de *S. aureus* fue por métodos oficiales. Las pruebas de susceptibilidad y resistencia a antimicrobianos se realizaron por el método de difusión de disco en agar, utilizando multidisco de trimetoprima (TMP 25 µg), vancomicina (VAN 30 µg), oxitetraciclina (OXT 30 µg), penicilina (PSU 10 UI), amoxicilina (AMX 25 µg), lincomicina (LIC 2 µg), sulfadiazina (FE 300 µg), fluorfenicol (FFC 30 µg), ampicilina (AM 500 µg) y estreptomina (EXT 10 µg). El 93.68% de los quesos analizados fueron positivos a la presencia de *S. aureus* y solo el 6.32% resultaron negativos. De las 89 cepas aisladas, 23 presentaron resistencia a por lo menos un antimicrobiano, siendo las cepas 47, 58, 86 y 89 las más resistentes a TMP, OXT, PSU, AMX y AM. En lo que respecta a los perfiles de resistencia por parte de *S. aureus*, el mayor número de cepas resistentes fueron para los β-lactámicos PSU (80), OXT (45) y AMX (34), por lo que los porcentajes de resistencia fueron los más altos.

INTRODUCCIÓN

El queso es un alimento muy apreciado debido a sus cualidades nutritivas y sensoriales. Se ha elaborado desde hace varios siglos a partir de leche de vaca, oveja, cabra y otros rumiantes (Villegas & Cervantes, 2011; Camacho *et al.*, 2016). Existen más de 4,000 variedades de queso en todo el mundo con características de aroma, sabor y textura propias., las cuales vienen determinadas por el tipo de leche y cuajo empleado, por la

preparación de la cuajada y por la presencia de microorganismos (principalmente bacterias ácido lácticas), responsables del desarrollo, durante la maduración (Serna *et al.*, 2012; Reséndiz *et al.*, 2012).

Sin embargo, al estar elaborados con leche cruda los quesos artesanales presentan el inconveniente del riesgo sanitario que supone su consumo, ya que la leche cruda puede contener microorganismos patógenos y deterioradores que provocan pérdidas económicas, y más aún, enfermedades en los consumidores (Camacho *et al.*, 2016). Razón por la cual se le asocia con mayor frecuencia a brotes por intoxicación alimentaria por microorganismos como *S. aureus*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* productora de verotoxina (Marcelo, 2015; Mehli *et al.*, 2017). *S. aureus* es un patógeno que se ha visto involucrado en diferentes tipos de quesos al momento del procesamiento de la materia prima, debido a una manipulación inadecuada (Rodríguez *et al.*, 2015). Además, en diferentes países de Latinoamérica ha sido notificada su presencia en quesos pasteurizados (Félix *et al.*, 2006). La FDA (Administración de Drogas y Alimentos), en el 2015, refiere que el consumo de leche y quesos elaborados sin las medidas higiénicas necesarias pueden causar infecciones. En los últimos años se ha observado una mayor resistencia en cepas de *S. aureus*, tanto de origen clínico como de uso industrial, debido a la capacidad de producir intoxicación y probablemente al uso intensivo de antimicrobianos en los sistemas de producción animal y en salud pública (Baños-Zamora *et al.*, 2015). En este sentido, la resistencia que se presenta a los antimicrobianos es un problema de Salud Pública en muchos países, debido a la persistente circulación de cepas resistentes en el medio ambiente y la posible contaminación de agua y alimentos, es por ello, que en diversas investigaciones han postulado que eventualmente los microorganismos ingeridos diariamente con los alimentos podrían estar sirviendo de reservorios para el mantenimiento de la resistencia a los antimicrobianos (Roussel *et al.*, 2015). Por lo cual, en el presente trabajo se determinaron y compararon los perfiles de resistencia obtenidos de cepas de *S. aureus* aisladas a partir del queso Cotija, producidos en la Zona Geográfica de producción del queso Cotija.

MATERIAL Y MÉTODOS

Toma de muestras: De un total de 315 productores de queso Cotija, se muestreo el 30% (95 productores), los quesos fueron elaborados con leche cruda entera, cada pieza de queso con un peso aproximado de 20 Kg, provenientes de los municipios de Cotija, Los Reyes y Tocumbo por parte del estado de Michoacán y Santa María del Oro, Jilotlan y Quitupan, en el estado de Jalisco (México). El tiempo que transcurrió entre la toma de muestra y transporte al laboratorio para su procesamiento fue de 2 h. Los quesos muestreados fueron colocados en bolsas de plásticos estéril y posteriormente transportados en una hielera a 4°C hasta su procesamiento en el laboratorio.

Al momento de tomar las muestras, se tuvo especial cuidado de elegir el centro y en un punto situado a una distancia mínima de 10 a 20 cm del borde, pasando por el centro hasta aparecer por el lado opuesto de profundidad (NMX-F-718- COFOCALEC-2006). Todas las muestras fueron transportadas en una hielera a 5°C para su procesamiento directo.

Aislamiento, identificación y recuento de *Staphylococcus aureus*: La metodología empleada fue la descrita en el Compendio de Métodos para el examen Microbiológico de Alimentos (Pouch, 2001). Para llevarlo a cabo, se pesaron 10 g de cada muestra y se mezclaron con 90 ml de agua peptonada estéril 0,1 %. De esta suspensión se hicieron cinco diluciones decimales y cada una fue inoculada en 0,1 mL en placas de Agar Baird-Parker sembradas por superficie con una varilla de vidrio estéril. Las placas fueron incubadas a 35 °C por un lapso de 48 h. Todos los recuentos se realizaron por duplicado. Después de transcurrido el tiempo de incubación, fueron seleccionadas las placas que presentaron colonias entre 30 y 300 UFC, para posteriormente seleccionar colonias sospechosas (colonias negras con halos de inhibición transparente y turbios). La confirmación fue mediante las pruebas de catalasa y coagulasa. Los aislamientos que resultaron positivos fueron posteriormente identificados mediante el sistema Vitek I.

Pruebas de sensibilidad: A partir de los cultivos de 18 a 24 h se preparó una suspensión bacteriana, se tomaron de 1 a 4 colonias de morfología idéntica, y se suspendieron en tubos de solución salina fisiológica. Finalmente, el cultivo fue incubado en baño metabólico a 37 °C hasta que alcanzo una turbidez estándar. Las suspensiones fueron ajustadas a 0.5 de nefelómetro de McFarland, al $\lambda = 625$ nm en una lectura de absorbencia del 0.082 – 0.1.

Transcurrido 15 minutos de haberse ajustado el inóculo, se procedió a sembrar en placas de Muller-Hinton con un hisopo estéril, presionando firmemente contra las paredes de la placa a fin de escurrir el exceso de inóculo. Una vez que las placas absorbieron el inóculo, se procedió a colocar los discos de papel filtro estériles de los antimicrobianos que se utilizaron: trimetoprima (TMP 25 microgramos (μg), vancomicina (VAN 30 μg), oxitetraciclina (OXT 30 μg), penicilina (PSU 10 UI), amoxicilina (AMX 25 μg), lincomicina (LIC 2 μg), sulfadiazina (FE 300 μg), fluorfenicol (FFC 30 μg), ampicilina (AM 500 μg) y estreptomina (EXT 10 μg); sobre la superficie del medio inoculándolos con una pinza estéril y aplicando una ligera presión a una distancia no menor a 24 mm desde un centro al otro. La distancia que se dejó al borde de la placa fue menor a 14 mm. En cada placa fueron colocados 4 antimicrobianos con un disco control con dos repeticiones, para posteriormente ser incubadas a 35°C durante 18 h. Las placas empleadas para el antibiograma de *S. aureus* se hizo mediante el uso de luz para examinar las zonas de inhibición de penicilinas resistentes a penicilinas y vancomicina. Para el resto de los antibiogramas, el punto final se consideró el área que no presentó desarrollo, no incluyendo velo de crecimiento o colonias muy pequeñas que pudieran ser detectadas solo con mucha dificultad en el borde de la zona. Los resultados fueron informados como microorganismos sensibles (S), intermedios (I) y resistentes (R).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El 93.68% de los quesos muestreados, no cumple con el valor de referencia permitido para quesos madurados de 1000 UFC/g que señala la NOM-121-SSA1-1994 (Tabla I), resultados que se pueden atribuir probablemente a un tratamiento inadecuado contaminación posterior en el manejo de la materia prima y/o falta de higiene en equipo, utensilios que son empleados durante el proceso de elaboración (Caldas & Ogeerally, 2009). Castillo en el 2013, reporta la prevalencia del 100% de bacterias patógenas (*L. monocytogenes* y *S. aureus*) en 24 quesos frescos analizados, valores que superaron los límites de referencia estipulados por la Normatividad, atribuyendo estos resultados a la deficiente manipulación durante la producción y comercialización del queso. Estos resultados se encuentran por arriba de los valores que se encontraron en la presente investigación.

Tabla I. Recuento bacteriano de *S. aureus* en UFC/g en muestras de queso producido en la región de origen del queso Cotija (*Bacterial count of S. aureus in UFC/g in samples of cheese produced in the region of origin of Cotija cheese*).

UFC/g	Numero de muestras	Porcentaje
0	6	6.31
$\geq 10^1$ $10^2 \leq$	10	10.53
$\geq 10^2$ $10^3 \leq$	15	15.79
$\geq 10^3$ $10^4 \leq$	14	14.74
$\geq 10^4$ $10^5 \leq$	25	26.31
$\geq 10^5$ $10^6 \leq$	10	10.53
$\geq 10^6$	15	15.79

0UFC: Unidades Formadoras de Colonias

Así mismo, Ruiz-Pérez *et al.* (2017), encontraron una carga bacteriana elevada de *S. aureus* en 141 (41.7%) quesos costeros artesanales, considerando un riesgo para la salud, debido a que, en este tipo de alimentos, este patógeno puede producir enterotoxinas (entre otros factores de virulencia), a través de las cuales ejerce su acción patógena contra el hombre. La presencia de este patógeno se puede reducir al implementar programas de buenas prácticas de higiene durante el proceso de elaboración de quesos (Rodríguez *et al.*, 2016). Los recuentos de *S. aureus* expresados como UFC/g, así como la distribución en porcentajes del queso Cotija, se presentan en la tabla I, en la cual se observa que el 6.31% no se detectó la presencia de *S. aureus* de las 95 piezas de queso muestreado, el mayor porcentaje de recuento de este patógeno fluctuó entre $\geq 10^4 \leq 10^5$ UFC/g (26.31%), sin embargo, el 15.79% tuvo una carga elevada $\geq 10^6$ UFC/g. Estos recuentos fueron corroborados calculando la media y la desviación estándar.

En la tabla II se presentan los diámetros obtenidos en mm de los antimicrobianos evaluados y se observa que PSU, OXT y AM presentaron resistencia a las cepas de *S. aureus*, lo cual se puede corroborar con los diámetros que establece la norma del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2015), para PSU un diámetro menor de 28 mm, OXI se señala como resistente si presenta un halo menor de 14 mm y AM menor de 11 mm.

Tabla II. Sensibilidad de *S. aureus* de muestras aisladas del queso Cotija (*S.aureus sensitivity of identified samples of Cotija cheese*).

Antimicrobiano	Halos de inhibición (mm)	Interpretación
TMP	18.5	S
VAN	17.8	S
OXT	10.4	R
PSU	22.4	R
AMX	10.6	I
LIC	14.8	I
FE	17.7	S
FFC	21.8	S
AM	9.30	R
EXT	12.3	S

TMP: trimetoprima, VAN: vancomicina, OXT: oxitetraciclina, PEN: penicilina, AMX: amoxicilina, LIC: lincomicina, FE: sulfadiazina, FFC: fluorfenicol, AM: ampicilina y EXT: estreptomicina.

Respecto al porcentaje de resistencia, la PSU fue donde se detectó el mayor número de cepas resistentes (89.88%), debido a que *S. aureus* presenta una resistencia natural a este antimicrobiano por la producción de la enzima penicilinas, la cual es inactivada y evita que llegue a las proteínas fijadoras (Tabla III). La PSU en la Unión Europea es el antibiótico de mayor uso reportándose porcentaje entre el 10 al 83% de un total de venta (EMA, 2018). Es importante mencionar que los resultados que se obtuvieron en la presente investigación respecto a PSU fueron mayores con respecto a los demás antimicrobianos, por lo que esto puede dar lugar a la selección de resistencia y aumentar el riesgo de cepas multirresistentes hacia los seres humanos. Muchos de los antimicrobianos administrados en la práctica veterinaria se encuentran estrechamente relacionados con la medicina humana como, por ejemplo: penicilina, lincosimidias, sulfonamidas, trimetropim, tetraciclina, macrólidos, aminoglúcidos (De Groot *et al.*, 2004).

Tabla III. Porcentaje de resistencia de *S. aureus* aislado del queso Cotija (*Percentage of resistance of S.aureus isolated of Cotija cheese*).

Antimicrobiano	No de cepas	Porcentaje (%)
TMP	2	2.25
VAN	0	0.00
OXT	45	50.56
PSU	80	89.88
AMX	7	7.86
LIC	5	5.61
FE	1	1.12
FFC	3	3.37
AM	34	38.20
EXT	2	2.25

TMP: trimetoprima, VAN: vancomicina, OXT: oxitetraciclina, PEN: penicilina, AMX: amoxicilina, LIC: lincomicina, FE: sulfadiazina, FFC: fluorfenicol, AM: ampicilina y EXT: estreptomicina.

Tabla IV. Multirresistencia de *S. aureus* aislado del queso Cotija (*Multiresistance of S. aureus isolated from Cotija cheese*).

N cepa	TMP	VAN	OXT	PSU	AMX	LIC	FE	FFC	AM	EXT
47	9.0	19.5	11.6	21.6	19.8	23.5	17.8	23.6	9.7	15.6
58	19.7	20.2	11.0	19.0	12.7	25.7	18.3	24.8	9.6	14.6
86	18.5	23.5	13.6	20.5	21.3	26.2	17.9	23.9	10.5	10.9
89	22.1	22.9	12.5	22.6	18.7	23.1	19.9	20.9	9.8	18.7

TMP: trimetoprima, VAN: vancomicina, OXT: oxitetraciclina, PEN: penicilina, AMX: amoxicilina, LIC: lincomicina, FE: sulfadiazina, FFC: fluorfenicol, AM: ampicilina y EXT: estreptomicina.

De las 89 cepas aisladas del queso Cotija, 4 resultaron multirresistente (Tabla IV) este término se atribuye cuando una cepa es resistente a más de dos antimicrobianos, en este caso se presentó resistencia a TMP, OXI, PSU, AMX y AMP, esta resistencia se puede atribuir al uso indiscriminado que se presenta en los animales dando lugar a la selección de resistencia en bacterias y recombinación de genes de resistencia (Couto, 2010) confiriendo resistencia antimicrobianos que son frecuentemente empleados en la práctica veterinaria (Robison, 2016) y que generalmente se aplican para el tratamiento de la mastitis bovina u otras enfermedades (Cedillos & Guerra, 2012).

Tabla V. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *S. aureus* aislado del queso Cotija (*Antimicrobial susceptibility of S. aureus strains isolated from Cotija cheese*).

Antimicrobiano	Resistente		Intermedio		Sensible	
	N cepas	%	N cepas	%	N cepas	%
TMP	2	2.25	80	89.88	87	97.75
VAN	0	100	34	38.20	82	92.13
OXT	45	50.56	32	35.95	2	2.25
PSU	80	89.88	0	100	0	100
AMX	7	7.86	67	75.28	74	83.14
LIC	5	5.62	85	95.50	87	95.75
FE	1	1.12	83	93.25	85	95.50
FFC	3	3.37	67	75.28	80	89.88
AM	34	38.20	58	65.17	8	8.98
EXT	2	2.25	87	97.75	80	89.88

De manera global en la tabla V, se presentan los resultados obtenidos de la susceptibilidad de *S. aureus*, en la cual se aprecia que el mayor porcentaje de resistencia se detectó en PSU (89.88%) y la EXT (86.52%). Respecto a la evaluación de los 10 antimicrobianos evaluados a las 89 cepas aisladas del queso Cotija, el mayor porcentaje de resistencia se detectó en PSU (89.88%) y en el TMP fue donde se registró el mayor porcentaje de cepas sensibles. Los principales mecanismos de resistencia encontrados en bacterias Gram positivas la inactivación enzimática, la cual se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico a través de la producción de β -lactamasas, este es el caso de los amino glucósidos y penicilina. La resistencia a la penicilina esta medida por el gen blaZ, cuyo producto es la β -lactamasa, que hidroliza el anillo β -lactámico de la penicilina y lo inactiva (WHO, 2014). La resistencia a penicilina está ampliamente reportada en la literatura, tanto en cepas de origen clínico, como provenientes de diversos alimentos (Rosengre *et al.*, 2010). En este trabajo los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por Yuceli *et al.* (2010) quienes reportan el porcentaje de resistencia a 15 antimicrobianos de uso frecuente en medicina humana y de uso veterinario, en el cual se detectó un nivel notable de resistencia a la penicilina (98.3%) en casos clínicos y un 92% en alimentos. Alvarado *et al.* (2011), reportan el 31% de resistencia a penicilina de 35 cepas provenientes de quesos, resultados que están muy por debajo de lo que se encontró en la presente investigación. Así mismo, Rivera *et al.* (2010) reportan los resultados obtenidos de 25 cepas provenientes de quesos en donde se detecta la resistencia total a penicilina, oxacilina, tetraciclina, eritromicina y amikacina, siendo muy similares a los

que se obtuvieron en este trabajo, es importante mencionar que el porcentaje de resistencia que se presentó podría sugerir que tanto la penicilina y oxitetraciclina, ya no son efectivos contra las infecciones que puede provocar *S. aureus*. Jamali *et al.* (2015), reportan los resultados obtenidos de 328 cepas aisladas de 2650 muestras de leches, presentándose una multiresistencia. El alto nivel de resistencia de *S. aureus* también ha sido reportado para tetraciclina, meticilina, kanamicina, gentamicina y estreptomina, indicando un alto potencial de desarrollo a la resistencia a agentes antimicrobianos. En el caso de los aminoglucósidos, *S. aureus* tiene un gen que codifica para una enzima bifuncional que confiere la resistencia a antimicrobianos como a la gentamicina, para los macrólidos son un grupo de antimicrobianos caracterizados por la presencia de un anillo lactona macrocíclico como núcleo de su estructura química (Lucas *et al.*, 2007) en el cual el microorganismo es capaz de metilar una adenina en la posición 2058 de 23S rRNA y para las tetraciclina, se modifican los ribosomas del microorganismo (Strommenger *et al.*, 2003). De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, queda claro que existen cepas que son resistentes a uno o dos antimicrobianos, pero también se observó la resistencia a más de tres y los cuales son llamados multidrogosresistente. Está bien documentado que *S. aureus* puede tener un amplio espectro de intervalo de resistencia a antimicrobianos debido a la transferencia horizontal de genes, los cuales son transportados por elementos génicos móviles como plásmidos, transposones y secuencias de inserción (Bustos *et al.*, 2006), esto genera que las cepas puedan adquirir material genético para resistencia, que anteriormente no tenía. Actualmente, se continúa con la idea de encontrar el porqué de la multiresistencia de este microorganismo a antimicrobianos para poder minimizar este suceso. Sin embargo, una de las posibles causas es la facilidad que existe para la adquisición de estos (Miranda, 2011).

CONCLUSIONES

Los principales antimicrobianos a los que mostraron mayor resistencia las cepas de *S. aureus* presentes en los quesos artesanales, fueron PSU, OXT y AM. De las 89 cepas de *S. Aureus* 4 presentaron multiresistentes (47, 85, 86 y 89), TMP, FE y EXT presentaron porcentajes muy similares en cuanto a intervalos medio de sensibilidad y sensibilidad total, VAN y LIC fueron los únicos antimicrobianos que presentaron sensibilidad ante *S. aureus*. Se puede considerar que el uso indiscriminado de antimicrobianos en los hatos de producción lechera, del área de estudio, tiene que ver con la aparición de cepas resistentes, involucradas en este estudio.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Secretaria de Investigación y Posgrado del IPN, por el financiamiento otorgado al proyecto “Elaboración de un cultivo iniciador de bacterias ácido lácticas autóctonas a partir del queso Yuca”. Clave SIP201500440.

BIBLIOGRAFÍA

- Alvarado V.H., Mora M., Arias M.L., Rojas N. & Chaves C. 2011. Resistencia antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus*. Costa Rica. *Salud Pública*. 20, (2)102-106.
- Baños-Zamora M., Somonte-Zamora D.E. & Morales-Pérez V. 2015. Infecciones nosocomiales. Un importante problema de salud a nivel mundial. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica de Medicina y Laboratorio*. 62, (1) 33-39.
- Bustos M.J.A., Hanadan P.A. & Gutiérrez C.M. 2006. *Staphylococcus aureus* la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Revista Biomédica*. 17, 287-305.
- Caldas L.C. & Ogeerally P.A. 2009. Calidad sanitaria en queso artesanal tipo “telita” Uputa, municipio Piar, estado Bolívar. *Revista Venezolana de Microbiología*. 29, 98-102.
- Camacho V.J., Cervantes E.F., Palacio R.M. & Ocampo L.J. 2016. Análisis de sistemas agroalimentarios como sistemas complejos: el quesillo artesanal de Reyes Etlá. En Mercados y desarrollo sustentable. Renard Hubert. Red SIAL. México CONACYT. pp 221-226.
- Castillo S.G.E. 2013. Prevalencia de bacterias patógenas *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* en quesos frescos elaborados artesanalmente en las Parroquias rurales de Canton, Riobamba. Tesis de Licenciatura. Riobamba, Ecuador. pp 60-67.
- Cedillo A.R.S. & Guerra R.J.C. 2012. Determinación de la multiresistencia microbiana de *Staphylococcus aureus* aislado a partir de diferentes fuentes que intervienen en la elaboración del queso fresco artesanal proveniente de dos queserías. Tesis de Licenciatura. Universidad de El Salvador pp. 57-59.

- CLSI.2015. *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Sixte Centh Informational Supplement. 26(3):M100-S16.
- Couto G. & Richard N. 2010. *Medicina interna de pequeños animales*. 1502.
- De Groot B., Nightingale C., Friis C., Phillips I., Waddell J., Casewell M. & Cox T. 2004. Does the used of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 53, (1)28-52.
- EMA. 2018. European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption, Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countri in 2016.
- FDA. 2015. *Administración de Drogas y Alimentos*. Los peligros de la leche cruda: La Leche sin Pasteurizar Puede Representar un Riesgo Grave Para la Salud.
- Feliz-Fuentes A., Campas-Baypoli O.N. & Meza-Montenegro M. 2006. Calidad sanitaria de los alimentos disponibles al público en la Ciudad de Obregon, Sonora México. *Revista de Salud Pública y Nutrición*. 6,(3)1-3.
- Jamali M.P., Beharad R. & Ismail R. 2015. Prevalence and antimicrobial resitance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Journal of Food Control*. 54, 285-2883.
- Lucero M.F., Mertoriño O.N. & Errecalde J.O. 2007. Macrolidos: novedades de un clásico grupo de antimicrobianos. *Analecta Veterinaria*. 27, (1)36-45.
- Marcelo Z.C. 2015. Algunas consideraciones acerca de las enfermedades transmitidas por alimentos. *Journal of the Selva Andina Research Society*. 6, (1) 23-43.
- Mehli L., Hoel S., Thomassen G.M.B., Jakobsen A.N. & Karlsen H. 2017. The prevalence, genetic diversity and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* in milk, whey, and cheese from artisan farm dairies. *International Dairy Journal*. 65, 20-7.
- Miranda N.M. 2011. Antimicrobial resitance in *Staphylococcus aureus* en México. *Boletín Médico del Hospital Infantil México*. 68, (4) 242-249.
- Pouch F. 2001. *Compendium of methods for the Microbiological Examination of Foods* 4th.Ed. American Public Health Association 800.I St., NW. Washington, DC
- NOM-121-SSA1-1994. *Norma Oficial Mexicana*. Especificaciones sanitarias sobre los quesos frescos, madurados y procesados.
- NMX-F-718-COFOCALEC-2006. *Norma Mexicana*. Sistema producto leche-alimentos-lácteos-guía para el muestreo de leche y productos lácteos.
- Reséndiz M. R., Hernández Z.J.S., Ramírez H. R. & Pérez A. R. 2012. El queso fresco artesanal de la canasta básica y su calidad sanitaria en Tuzuapan, México. *Acta Iberoamérica de Conservación Animal*. 2, 253-255.
- Rivera-Salazar D. I., Mújica de Fernández I., Aranaga-Natera V., Navarro-Ocando C., Zabala-Díaz. &Bracho L. 2011. *Staphylococcus aureus* procedente de queso: susceptibilidad a antibióticos y su relación con plásmidos. *Revista Científica. Universidad de Zulia Venezuela*. 21,(3)202-210.
- Robison B., Carrinque-Mas, Fevre, Gilbert M., Grace D., Hay S.I., Jiwakanon J., Kakkar M., Kariuki S., Laxminarayan R., Lubroth J., Magnusson U., Thi Ngoc P., Van Boeckel T.P.& Woolhouse M.E.J. 2016. Antibiotics resistance is the quintessential One Health issue. *The Royal Society of Tropical Medicine*, 4.
- Rodríguez D. I., Ovispo R. & Camilo J. 2016. Casos de enfermedades transmitidas por alimentos en los liceos Rodolfo Rodríguez Ricart y José Antonio Castillo de la provincia de moca. República Dominicana. *Revista Utesina de la Facultad de Ciencias de la Salud*. 1, (1) 20-29.
- Rodríguez P.J.E., Borrás S.L.M., Pulido M.O.M. &García C.D.J. 2015. Calidad microbiológica en quesos frescos artesanales distribuidos en plazas de Mercado de Tenja, Colombia. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*. 53, (3)1-8.
- Rosengren A., Fabricius A., Sylen S. & Lindqvist R. 2010. Ocurrance of food borne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produce on farm-dairies. *International Journal of Food Microbiology*. 144, 263-269.
- Roussel S.J., Mujica de Fernández I., Aragana N.V. & Navarro O.C. 2015. *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in france: comparison of different molecular typing methods, including MLVA. *Rev. Frontiers in Microbiology*. 6, (882) 1-12.
- Ruiz-Pérez R.A., Meneo-Morales N.Y. & Chams-Cham L.M. 2017. Valoración microbiológica de queso costeño artesanal y evaluación higiénico colectores de expendio en Córdoba, Colombia. *Revista Salud Pública*. 19, (3) 311-317.
- Serna L., Guamizo A. & Valencia L. 2012. Factores de riesgo de ETA'S en una comunidad universitaria en Colombia. *Biocnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 10, (1) 116-126.
- Stronmenger B., Kettlitz C., Werner G. & Witte W. 2003. Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. *Journal Clinical Microbiology*. 41, (9)4089-4094.

Villegas de G.A. & Cervantes E. F. 2011. La genuidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales. *Revista de Estudios Sociales*. 9, (38) 147-164.

WHO. 2014. *World Health Organization*. Antimicrobial resistance Global report on surveillance Paris.

Yuceli N., Citak S. & Bayhun S. 2011. Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples and foods of animal origin. *Food borne Pathogens and Disease*. 8, (3)427-431.