

PRESENCIA DE *Staphylococcus aureus* METICILINA-RESISTENTES EN QUESO DOBLE CREMA ARTESANAL

PRESENCE OF METHICILLIN-RESISTANT *Staphylococcus aureus* IN ARTISAN DOUBLE CREAM CHEESE

Fanny Herrera A.^{1*}, Jesús Santos B.²

¹ Microbióloga, Ph.D. Profesora Titular. Universidad de Pamplona, Facultad de Ciencias Básicas, Departamento de Microbiología, Grupo de Investigación en Microbiología y Biotecnología (GIMBIO). Ciudad Universitaria, Pamplona, Norte de Santander, Colombia, e-mail: fannyh@unipamplona.edu.co; ² Biólogo. Ph.D. Profesor Titular de Universidad. Universidad de León, Facultad de Veterinaria, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Campus de Vegazana, A.A. Nro. 24071, León, España. *Correspondencia: fannyh@unipamplona.edu.co

Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 18(1): 29-37, Enero-Junio, 2015

RESUMEN

Staphylococcus aureus metilina-resistente (MRSA) ha sido considerado como un patógeno limitado a infecciones nosocomiales, que además se puede transmitir por los alimentos. En este estudio, se analizaron 68 cepas de *Staphylococcus*, coagulasa positivas, aisladas a partir de 100 muestras de queso doble crema artesanal, elaborado en Pamplona (Colombia). Se determinó la prevalencia de los siguientes genes, mediante PCR: *mecA*, *coa*, *tst* y los correspondientes a las principales enterotoxinas, que puede producir esta bacteria. Se detectó el gen *mecA*, en el 18,2% de cepas *S. aureus*, identificadas. Todas las cepas portaban el gen *coa*, con una muy baja heterogeneidad. Ninguna cepa evidenció la existencia del gen que codifica la toxina 1 del síndrome del shock tóxico (*tst*); en el 42% de las cepas MRSA, se estableció la existencia del gen, para la enterotoxina B. La presencia de cepas MRSA, en este estudio, debe ser considerada como un peligro potencial para la salud de los consumidores de queso crema artesanal, especialmente, para personas dentro del rango poblacional, propensas a contraer infecciones alimentarias, en quienes esta bacteria puede llegar ser letal. Se sugiere la implementación de las medidas necesarias para evitar la futura propagación de MRSA, a la población por los alimentos, haciendo énfasis en la implantación de Buenas Prácticas Higiénicas y en la supervisión de la correcta utilización de antibióticos.

Palabras clave: Enterotoxinas, *mecA*, resistencia antibiótico, producto lácteo.

SUMMARY

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* is regarded as a pathogen limited to nosocomial infections, which can also be transmitted by food. In this study 68 *Staphylococcus* coagulase positive isolates obtained from 100 samples of artisan double cream cheese elaborated in Pamplona (Colombia) were analyzed. The presence of *mecA* and *coa* genes and the corresponding genes to the main staphylococcal enterotoxins was determined by PCR. *mecA* gene was detected in 18,2% of *S.aureus* strains analyzed. All isolates carried the *coa* gene with very low heterogeneity; no strain showed the existence of the gene that encodes the toxin 1 of the toxic shock syndrome; The enterotoxin B gene was detected in 42% of the MRSA strains. The presence of MRSA strains in this study should be considered a potential health risk for consumers, especially vulnerable sections of the population who are prone to get foodborne infections where this bacteria can be lethal. The implementation of measures to prevent the spread of MRSA by food to the population, with particular emphasis in the implementation of Good Hygienic Practices and in the supervision of the correct use of antibiotics is suggested.

Key words: Enterotoxins, *mecA*, antibiotic resistance, dairy product.

INTRODUCCIÓN

Se considera a *Staphylococcus aureus* uno de los principales agentes causales de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAs), en el mundo y el patógeno más frecuentemente asociado a quesos elaborados con leche

cruda (Cretenet *et al.* 2011). En Colombia, *S. aureus* se encuentra entre los principales microorganismos que se declaran en la red de vigilancia de ETAs (Vanegas *et al.* 2008).

Staphylococcus aureus produce una gran variedad de factores de virulencia, entre ellos, la coagulasa, la toxina 1 del síndrome del shock tóxico (TSST-1) y las enterotoxinas estafilocócicas (SE). La coagulasa ocasiona la formación de una capa de fibrina alrededor del absceso estafilocócico, localizando la infección y protegiendo a la bacteria de la fagocitosis. La toxina 1 del síndrome del shock tóxico de *S. aureus* actúa como superantígeno, estimulando la liberación de varias citocinas, prostaglandinas y leucotrienos, los cuales, producen los signos y los síntomas del síndrome, que son fiebre alta, dolor de cabeza, vómito, diarrea, mialgias (Herzer, 2001). Las enterotoxinas estafilocócicas (SE) provocan la intoxicación alimentaria; *S. aureus* produce cinco toxinas típicas: SEA, SEB, SEC, SED y SEE, las cuales, originan emesis en primates. Las enterotoxinas más frecuentes en brotes de ETAs son la ESA y la ESB (Pinchuk *et al.* 2010).

Además de los factores ya mencionados y de otros tantos que presenta *S. aureus* (Bustos *et al.* 2006), se tiene su acrecentada resistencia frente a los antibióticos. Desde su resistencia a la penicilina, en los años 40, se introdujeron nuevos antibióticos β -lactámicos, estables a la acción de las penicilinasas, como la meticilina. Muy poco tiempo después, en 1960, se presentaron las primeras cepas resistentes, denominadas MRSA (Methicillin Resistant *S. aureus*); a partir de entonces, se han aislado cepas de MRSA, en todo el mundo; su diversidad genética y capacidad de adquirir genes exógenos por medio de plásmidos, secuencias de inserción o transposones, le permite a esta bacteria adaptarse fácilmente a condiciones ambientales cambiantes y modular su patogenicidad (Moellering, 2012).

Las infecciones provocadas por las cepas MRSA, inicialmente, se limitaban al ambiente hospitalario (HA-MRSA). Posteriormente, en los 90, aparecieron los primeros reportes por infecciones adquiridas en la comunidad (CA-MRSA), en las cuales, no existen, aparentemente, en el individuo factores de riesgo, relacionados con atención hospitalaria. El tercer tipo de emergencia se ha asociado con infecciones en animales de abasto vivos, denominados LA-MRSA (Livestock-associated MRSA), lográndose aislar MRSA en cerdos (Voss *et al.* 2005), en pollos (Fessler *et al.* 2011), en ganado vacuno y ovejas (Fessler *et al.* 2012), entre otros.

En todo el mundo, se ha detectado la presencia de MRSA en diversos alimentos de origen animal; concretamente, en carne de vacuno, las prevalencias son muy variadas. En Holanda, un estudio encontró MRSA en el 10,6% de muestras de carne de res y, en el 15,2%, de muestras de ternera (de Boer *et al.*

2009). Weese *et al.* (2010) detectaron once cepas MRSA, en 198 muestras de carne molida, originarias de Canadá. En Irán, se aislaron MRSA, a partir del 89,1%, de muestras positivas para *S. aureus*, aisladas de hamburguesas (Shahraz *et al.* 2012). En Georgia, Estados Unidos de América (EUA), se obtuvo una prevalencia del 4,0%, en cárnicos de res al detal (Jackson *et al.* 2013). En leche de vaca, la presencia de MRSA, se ha asociado, de forma general, a la producción de mastitis en vacas; en Bélgica, se identificaron 9,3% de cepas aisladas de muestras de leche con mastitis, como MRSA (Vanderhaeghen *et al.* 2010). Asimismo, Haran *et al.* (2012), aislaron dos cepas MRSA, a partir de 150 muestras de leche cruda, en Minnesota (EUA). En Italia, Normanno *et al.* (2007) identificaron cuatro MRSA, de 160 cepas de *S. aureus*, a partir de muestras de leche.

El más reciente tipo de emergencia ocasionada por los MRSA tiene que ver con la producción de enfermedad en el hombre, por el consumo de alimentos (FBA-MRSA, FoodBorne Associated-MRSA). Hasta la fecha, se han reportado dos brotes de origen alimentario por MRSA, siendo el origen, manipuladores infectados (Jones *et al.* 2002; Kluytmans *et al.* 1995). En la actualidad, existe controversia respecto a las verdaderas implicaciones de este tipo de emergencia bacteriana en la salud pública; sin embargo, se ha demostrado el vínculo epidemiológico existente entre la presencia de cepas MRSA en heces de pacientes con diarrea con cepas aisladas en muestras de carne cruda, comercializada en la misma región, de donde procedían los pacientes, sugiriendo que la carne puede determinar la presencia de MRSA y ocasionar enfermedad en la comunidad y, de esta manera, evidenciar que los alimentos puedan ser una fuente de estas cepas en la población (Ogata *et al.* 2012).

Los MRSA pueden ocasionar una gran variedad de manifestaciones clínicas en el hombre, desde infecciones leves en la piel, bacteriemia, neumonía, endocarditis, síndrome del shock tóxico e, incluso, la muerte (Bustos *et al.* 2006).

Según el Centro de Control de Enfermedades de Europa (ECDC), en el 2011, la prevalencia de MRSA fue superior al 25%, en ocho de los países que reportan a esta entidad, Naciones ubicadas, principalmente, en el sureste de ese continente (ECDC, 2013). Otros datos han establecido que los MRSA han enfermado más de 150.000 personas, en el 2010, en la Unión Europea (Doyle *et al.* 2012). En EUA, de acuerdo con el Centro de Control de Enfermedades (CDC), el número de casos ocasionados por MRSA, incluyendo CA y HA, fue de 75.309, para el 2012 (CDC, 2012). En países, como Korea, la tasa de resistencia a la meticilina entre cepas *S. aureus*, de origen humano, es superior al 50% (Moon *et al.* 2007).

En Colombia, los datos existentes evidencian que los casos de CA-MRSA se incrementaron de 1,0%, en el 2001 a 5,4%, en el 2006 (Guzmán-Blanco *et al.* 2009); asimismo, se ha encontrado una prevalencia de MRSA en hospitales de tercer nivel, del 45% (Mejía *et al.* 2010).

Los objetivos de este estudio fueron determinar la prevalencia de cepas MRSA en muestras de queso doble crema artesanal, elaborado en Pamplona (Colombia) y establecer la presencia de genes que codifican factores de virulencia en las cepas aisladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas: Se analizaron 68 cepas de *Staphylococcus* coagulasa positivas aisladas, a partir de 100 muestras de queso doble crema, elaborado en Pamplona (Colombia). Estas cepas fueron aisladas, empleando el método tradicional, utilizando agar Baird Parker y realizando la prueba de la coagulasa, según la NTC 4779 (2007). Se realizaron, además, las pruebas de tinción de Gram y catalasa.

Identificación fenotípica de las cepas

Fermentación de la maltosa: A partir de cultivos de cada cepa crecidos en caldo BHI (Brain Heart Infusion, Oxoid), se inocularon 20 μ L en caldo base púrpura al 1,0% de maltosa. Se realizó la incubación a 37°C, durante 24 h; se consideró como positivo el cambio de color del medio hacia amarillo.

Factor de aglutinación: Fue adicionada una gota del reactivo de prueba sobre la tarjeta de reacción Staphaurex (Remel). Por medio de un asa, se tomaron de 1-3 colonias crecidas en agar TSA (Tryptone Soya Agar, Oxoid). Se observó la aparición de aglutinación máximo 20 seg, luego de la adición del reactivo.

Actividad termonucleasa: Se sometieron los cultivos de cada cepa crecidos en caldo BHI, a baño serológico, con agua hirviendo durante 15 min. Posteriormente, se inocularon en spot sobre agar ADN-azul de toluidina (Oxoid) e incubaron a 37°C/24h. La aparición de una zona rosa alrededor de las colonias indicó la presencia de actividad termonucleasa.

Coagulación del plasma de conejo: Fueron adicionados 0,5mL de un cultivo overnight de cada cepa en caldo BHI, a tubos de 10mm de diámetro interno, conteniendo 0,5mL de plasma de conejo hidratado (Biomérieux), incubando a 37°C. Se realizó la lectura luego de 6h, considerando como positivas, las cepas que evidenciaron un coágulo firme adherido a las paredes del tubo.

Degradación del fibrinógeno: A partir de cada cepa mantenida en TSA, se realizó una inoculación en spot en agar Baird

Parker, suplementado con fibrinógeno (Bioser), incubando a 37°C, por 24 horas. Se consideraron positivas aquellas cepas que, luego del periodo de incubación, formaban colonias brillantes, convexas, de color gris oscuro a negro, con una zona opaca alrededor de las colonias.

Presencia de genes de virulencia en las cepas

Detección de genes por PCR: Se analizó la presencia de los siguientes genes: *mecA*, *coa*, *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* y *tst*, que codifican, respectivamente: resistencia a la meticilina, coagulasa, enterotoxinas A a la E y la toxina del síndrome del shock tóxico. A partir de las cepas coagulasa positivas crecidas en caldo TSB (Caldo Trypticasa de Soja, Oxoid) e incubadas a 37°C, durante 24 horas, se transfirió 1,0mL, centrifugando a 13,000 \times g /3 min. Posteriormente, se adicionaron 200 μ L de Chelex-100 (Bio-Rad), resuspendiendo el sedimento completamente e incubando a 56°C, por 30 min. Se agitó cada tubo durante 10 segundos; luego, se sometió cada tubo a 100°C, durante 8 minutos; nuevamente, se agitó cada tubo y, finalmente, se centrifugó a 13,000 \times g/3min. Se cuantificó la concentración de ADN, empleando un Espectrofotómetro-UV Q3000. Partiendo de 3 μ L del ADN (50ng/ μ L, aproximadamente), se llevó a cabo la PCR; para esto, se emplearon los pares de cebadores correspondientes para cada gen a una concentración de 25mM y un cóctel comercial, conteniendo Taq polimerasa, buffer, dNTPs y Mg⁺² (5 PRIME). Fueron amplificados los diferentes genes en un equipo Mastercycler Personal. La secuencia de los cebadores empleados y la longitud de los amplificados, se muestran en la tabla 1.

Se sometieron los productos de la amplificación (5 μ L) a electroforesis en gel de agarosa (Bio- Rad), al 1,0% p/v a 100 V, durante 1h. Se realizó la visualización mediante tinción con RedSafeTM (iNtRon Biotechnology), empleando un transiluminador de luz ultravioleta, Mini-Transiluminador y documentando con la aplicación del Digimage System, acoplado a una cámara digital Canon Power Shot G11.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación fenotípica de las cepas: El 97% de las cepas, se identificaron como *S. aureus*, con base a la actividad lecitinasas en el agar Baird Parker, tinción de Gram, reacción de catalasa, reducción del telurito en el agar Baird Parker con RPF, pigmento amarillo en TSA y por su actividad maltosa, termonucleasa, factor de aglutinación y coagulación del plasma de conejo.

Presencia de genes que codifican factores de virulencia: Se detectó la presencia del gen *mecA*, en el 18,2% de cepas *S. aureus* identificadas (Figura 1), correspondiendo a una prevalencia del 9,0% en las muestras de queso analizadas

Tabla 1. Genes, cebadores, temperaturas de hibridación y tamaños esperados de los amplicones empleados para determinar la presencia de genes, que codifican factores de virulencia, en cepas de *Staphylococcus coagulasa* positivos.

Gen	Secuencia del Primer (5´ a 3´)	Temperatura de hibridación (°C)	Longitud del amplicón (pb)	Referencia
<i>mecA</i>	GCAATCGCTAAAGAACTAAG GGGACCAACATAACCTAATA	56	240	Smyth <i>et al.</i> (2001)
<i>coa</i>	ATAGAGATGCTGGTACAGG GCTTCCGATTGTTTCGATGC	57	547-840	Hookey <i>et al.</i> (1998)
<i>sea</i>	ACGATCAATTTTTACAGC TGCATGTTTTTCAGAGTTAATC	56	544	Rosec & Gigaud (2002)
<i>seb</i>	GAATGATATTAATTCGCATC TCTTTGTCGTAAGATAAACTTC	55	416	Rosec & Gigaud (2002)
<i>sec</i>	GACATAAAAGCTAGGAATTT AAATCGGATTAACATTATCCA	56	257	Rosec & Gigaud (2002)
<i>sed</i>	TTACTAGTTTGGTAATATCTCCTT CCACCATAACAATTAATGC	58	334	Rosec & Gigaud (2002)
<i>see</i>	ATAGATAAAGTTAAAACAAGCAA TAACTTACCGTGGACCC	52	170	Rosec & Gigaud (2002)
<i>tst</i>	ACCCCTGTTCCCTTATCATC TTTTCAGTATTTGTAACGCC	57	326	Mehrotra <i>et al.</i> (2000)

(Tabla 2). En estudios similares, Shanehbandi *et al.* (2014) detectaron este gen en el 21% de cepas de *S. aureus* aisladas de quesos tradicionales, en Irán. En Brasil, Fonseca *et al.* (2011) revelaron la presencia de cepas MRSA, en una

muestra de queso tradicional. En Colombia, Vanegas *et al.* (2012) aislaron 3,0% de MRSA, a partir de muestras de carne molida y crema de leche. Para nuestro conocimiento, este es el primer reporte de MRSA en queso en Colombia.

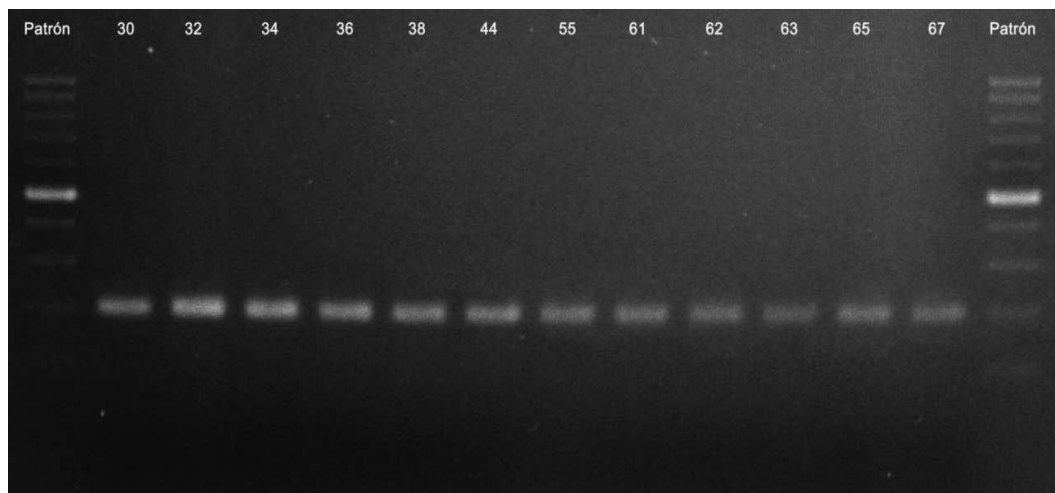


Figura 1. Presencia del gen *mecA* en cepas *S. aureus* aisladas, a partir de queso artesanal. El patrón de peso molecular está conformado por bandas de 100pb, cada una; la banda más intensa corresponde a 500pb.

Tabla 2. Genes que codifican factores de virulencia presentes en las cepas MRSA analizadas.

MUESTRA	CEPA	GEN <i>mecA</i>	TAMAÑO GEN <i>coa</i>	ESB
37	30	POS	573	NEG
42	32	POS	583	NEG
43	34	POS	593	NEG
43	36	POS	796-567	NEG
44	38	POS	568	NEG
50	44	POS	565	NEG
61	55	POS	573	NEG
78	61	POS	571	POS
78	62	POS	562	POS
78	63	POS	563	POS
82	65	POS	581	POS
84	67	POS	578	POS

La resistencia de *S. aureus* a la meticilina está conferida por el gen *mecA*, que codifica una proteína variante de unión a la penicilina (PBP), llamada PBP2a. Las PBPs, que se encuentran normalmente en la pared celular de la bacteria, se unen a la penicilina y previenen la síntesis de pared, ocasionando la muerte bacteriana; sin embargo, la PBP2a tiene una reducida afinidad por los antibióticos β -lactámicos, de tal manera, que continúa sintetizando peptidoglicano para la pared celular, aun cuando las PBP normales estén inhibidas por los antibióticos (Hiramatsu *et al.* 2001).

Todas las cepas MRSA portaban el gen *coa*; al determinar su tamaño, mediante la utilización del software GelAnalyzer,

la variación del tamaño fue de 562 a 796pb (Tabla 2); En una de las cepas se obtuvieron dos amplicones, sugiriendo algún grado de diversidad genética entre cepas, procedentes de la misma muestra (Figura 2), hallazgo que debe ser confirmado por los autores, por medio de técnicas, como la Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE).

Ninguna cepa evidenció la existencia del gen que codifica la toxina 1 del síndrome del shock tóxico (*tst*); resultados similares, se obtuvieron en muestras de productos cárnicos de pollo y de pavo (Fessler *et al.* 2011), en cepas aisladas de diferentes muestras, incluyendo carne y leche (Argudín *et al.* 2011) y en muestras de leche cruda (Haran *et al.* 2012), entre otros alimentos.

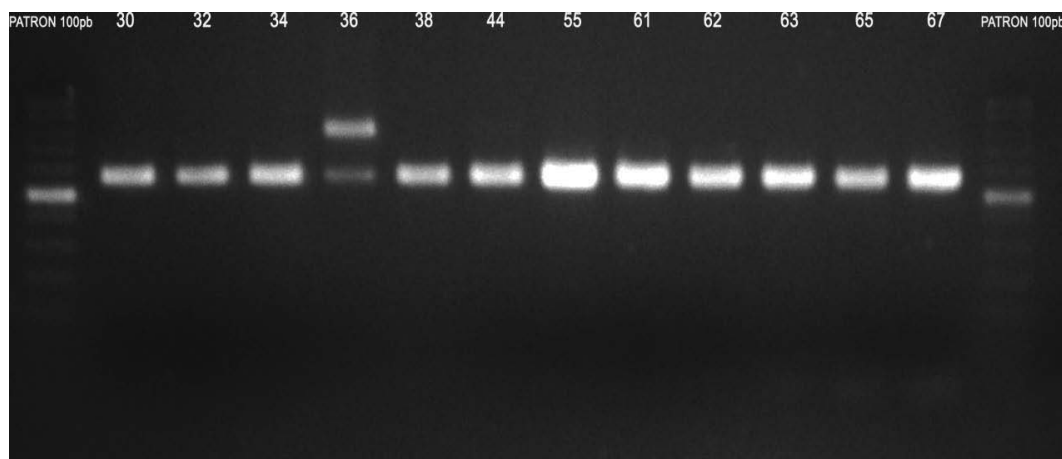


Figura 2. Amplificados del gen *coa* obtenidos para las cepas MRSA aisladas, a partir de queso artesanal. El patrón de peso molecular está conformado por bandas de 100pb, cada una; la banda más intensa corresponde a 500pb.

En el 42% de las cepas MRSA, se detectó la presencia del gen, para la enterotoxina estafilocócica B (ESB) (Figura 3), correspondiendo a una prevalencia del 3,0%, en las muestras, siendo el primer reporte, de esta enterotoxina en cepas MRSA, en quesos en Colombia (Tabla 2). Otros autores detectaron este gen, junto con el de otras enterotoxinas en cepas MRSA aisladas, a partir de leche cruda: Wang *et al.* (2014), a partir de muestras de leche cruda procedentes de China y Haran *et al.* (2012), en Minnessota.

El hecho de detectar el gen para la ESB provee mayor evidencia para soportar que las cepas MRSA puedan estar involucradas en brotes de intoxicaciones alimentarias (Normanno *et al.* 2007).

Se han investigado dos brotes de origen alimentario por las cepas MRSA: Uno de ellos ocurrió en Tennessee, en 2000 (Jones *et al.* 2002), vinculado al consumo de ensalada de col, logrando detectar el mismo aislado, a partir de frotis

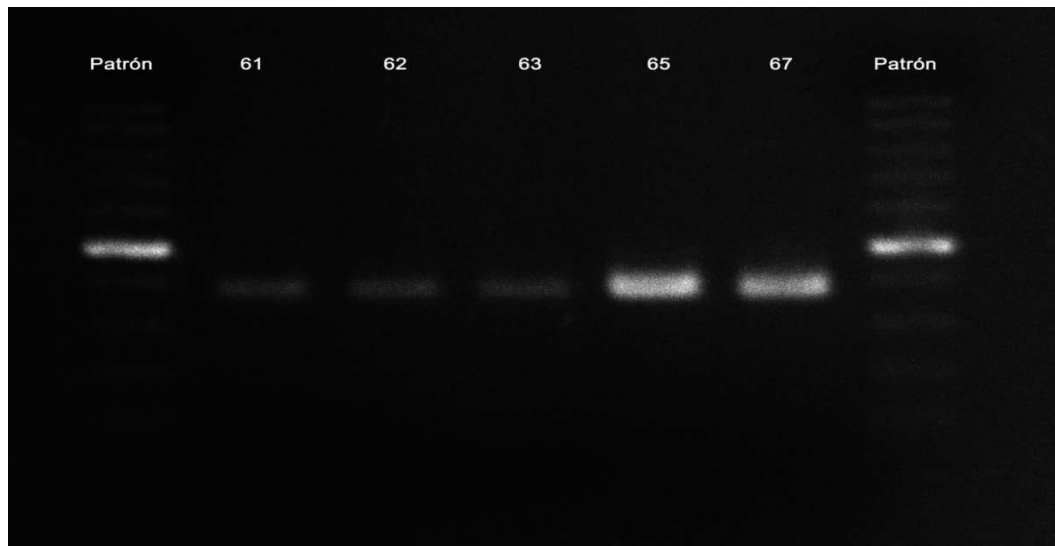


Figura 3. Presencia del gen *esb* en las cepas MRSA aisladas de queso artesanal. Patrón 100pb. El patrón de peso molecular está conformado por bandas de 100pb, cada una; la banda más intensa corresponde a 500pb.

de nariz de un manipulador. El otro brote, ocurrido en un hospital en Rotterdam, Holanda, afectó 27 pacientes y a 14 empleados de la unidad de cuidados intensivos, ocasionando cinco muertes. Los estudios epidemiológicos relacionaron a un empleado de esta unidad como la fuente del brote, quien contaminó un alimento ofrecido a los pacientes (Kluytmans *et al.* 1995). En estos brotes, se destaca a los portadores sanos, como vehículos importantes de cepas MRSA. A este respecto, Gorwitz *et al.* (2008) reportaron que 1,5% de la población en EUA, en el periodo 2003-2004, fue portadora de cepas MRSA, correspondiendo a 4.1 millones de personas, pudiendo convertirse en posibles fuentes de contaminación, sobre todo, si estas personas manipulan alimentos.

Es muy probable que el origen de la presencia de las cepas MRSA aisladas en las muestras de queso doble crema artesanal, producido en Pamplona, sean los manipuladores de este alimento. En un estudio realizado anteriormente

por los autores, se lograron comprobar las deficientes condiciones higiénico-sanitarias de los manipuladores de este alimento, presentando, algunos de ellos, heridas y laceraciones en las manos, expuestas en contacto directo con el alimento y en quienes los recuentos de *S. aureus*, de frotis de manos, fueron elevados (Daza *et al.* 2013).

Otros factores que pueden aumentar la presencia de cepas MRSA en los alimentos de origen animal es el uso indiscriminado de antibióticos en veterinaria y los antibióticos adicionados en los piensos para los animales de abasto. Estos abusos inducen la selección de cepas resistentes y su posterior introducción en la cadena alimentaria (Intrakamhaeng *et al.* 2012; Moon *et al.* 2007).

Por todo lo anterior, es necesario capacitar a los manipuladores del queso doble crema artesanal elaborado en Pamplona, en Buenas Prácticas de Manufactura, labor que ya se ha iniciado

y sugerir a las autoridades sanitarias gubernamentales para que se ejerza control sobre la utilización de antibióticos, tanto en explotaciones ganaderas así como en la comunidad en general.

Finalmente, es imprescindible realizar la caracterización genotípica de las cepas aisladas, con el fin de confirmar los resultados del presente trabajo.

En conclusión, se detectó una importante prevalencia de cepas MRSA en muestras de queso doble crema artesanal, en Pamplona, que debe ser considerada como un potencial riesgo para la salud de los consumidores, especialmente, para personas inmunocomprometidas y ancianos, en quienes esta bacteria puede ser letal.

Conflictos de intereses: El manuscrito fue preparado y revisado con la participación de los autores, quienes declaramos que no existe ningún conflicto de intereses, que ponga en riesgo la validez de los resultados presentados.

BIBLIOGRAFÍA

- ARGUDÍN, M.; TENHAGEN, B.; FETSCH, A.; SACHSENRODER, J.; KASBOHRER, A.; SCHROETER, A.; HAMMERL, J.; HERTWIG, S.; HELMUTH, R.; BRÄUNIG, J.; MENDOZA, M.; APPEL, B.; RODICIO, M.; GUERRA, B. 2011. Virulence and resistance determinants of German *Staphylococcus aureus* ST398 isolates from nonhuman sources. *Appl. Environ. Microbiol.* 77(9):3052-60.
- BUSTOS, J.; HAMDAN, A.; GUTIÉRREZ, M. 2006. *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Rev. Biomed.* 17:287-305.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION –CDC-. 2012. Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, 2012. Disponible desde Internet en: <http://www.cdc.gov/abcs/reports-findings/survreports/mrsa12.pdf> (con acceso el 21/10/2014).
- CRETENET, M.; EVEN, S.; LE LOIR, Y. 2011. Unveiling *Staphylococcus aureus* enterotoxin production in dairy products: a review of recent advances to face new challenges. *Dairy Sci. Technol.* 91:127-150.
- DAZA, A.; HERRERA, F.; NARANJO, A. 2013. Condiciones higiénico-sanitarias aplicadas en la elaboración de queso doble crema manufacturado en tres empresas de la provincia de Pamplona-Colombia. *Bistua.* 11(2):61-73.
- DE BOER, E.; ZWARTKRUIS-NAHUIS, J.; WIT, B.; HUIJSDENS, X.; DE NEELING, A.; BOSCH, T.; VAN OOSTEROM, R.; VILA, A.; HEUVELINK, A. 2009. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *Inter. J. Food Microbiol.* 134:52-56.
- DOYLE, M.; HARTMANN, F.; LEE A. 2012. Methicillin-resistant Staphylococci: implications for our food supply? *Anim. Health Res. Rev.* 13:157-180.
- EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL –ECDC-. 2013. Annual Epidemiological Report 2013. Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data. Stockholm. 2013. Disponible desde Internet en: <http://www.google.es/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0CCMQFjAA&url=http%3A%2F%2Fecdc.europa.eu%2Fen%2Fpublications%2FPublications%2FAnnual-Epidemiological-Report-2013.pdf&ei=2HltVIOjJ-vmyQP0oYHwCQ&usg=AFQjCNFÚvR21D1I51O1MTI7XzvkJhiSWVw&bvm=bv.76477589,d.bGQ> (con acceso el 21/10/2014).
- FESSLER, A.; KADLEC, K.; HASSEL, M.; HAUSCHILD, T.; EIDAM, C.; EHRLICH, R.; MONECKE, S.; SCHWARZ, S. 2011. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from food and food products of poultry origin in Germany. *Appl. Environ. Microbiol.* 77(20):7151-7157.
- FESSLER, A.T.; OLDE RIEKERINK, R.G.; ROTHKAMP, A.; KADLEC, K.; SAMPIMON, O.; LAM, T.; SCHWARZ, S. 2012. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 obtained from humans and animals on dairy farms. *Vet. Microbiol.* 160(1-2):77-84.
- FONSECA, C.; MATTE, M.; DROPA, M.; MAMIZUKA, E.; DE ALMEIDA, L.; LINCOPAN, N.; MATTE, G.; LEAL, P. 2011. Identification of *Staphylococcus aureus* carrying the *mecA* gene in ready-to-eat food products sold in Brazil. *Foodborne Pathog Dis.* 8(4):561-563.
- GORWITZ, R.; KRUSZON-MORAN, D.; MCALLISTER, S.; MCQUILLAN, G.; MCDONIGAL, L.; FOSHEIM, G.; JENSEN, B.; KILLGORE, G.; TENOVER, F.; KUEHNERT, M. 2008. Changes in the prevalence of nasal colonization with *Staphylococcus aureus* in the United States, 2001-2004. *J. Infect. Dis.* 197(9):1226-1234.

13. GUZMÁN-BLANCO, M.; MEJÍA, C.; ISTURIZ, R.; ALVAREZ, C.; BAVESTRELLO, L.; GOTUZZO, E.; LABARCA, J.; LUNA, C.; RODRÍGUEZ, E.; SALLES, M.; ZURITA, J.; SEAS, C. 2009. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 4:304-308.
14. HARAN, K.; GODDEN, S.; BOXRUD, D.; JAWAHIR, S.; BENDER, J.; SREEVATSAN, S. 2012. Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus*, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, isolated from bulk tank milk from Minnesota dairy farms. *J. Clin. Microbiol.* 50:688-695.
15. HERZER, C. 2001. Toxic shock syndrome: broadening the differential diagnosis. *J. Am. Board Fam. Pract.* 14:131-136.
16. HIRAMATSU, K.; CUI, L.; KURODA, M.; ITO, T. 2001. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.* 9:486-93.
17. HOOKEY, J.; RICHARDSON, J.; COOKSON, B. 1998. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *J. Clin. Microbiol.* 36:1083-1089.
18. INTRAKAMHAENG, M.; KOMUTARIN, T.; PIMPUKDEE, K.; AENGWANICH, W. 2012. Incidence of enterotoxin-producing MRSA in bovine mastitis cases, bulk milk tanks and processing plants in Thailand. *J. Anim. Vet. Adv.* 11:655-661.
19. JACKSON, C.; DAVIS, J.; BARRETT, B. 2013. Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and humans in Georgia. *J. Clin. Microbiol.* 51(4):1199-1207.
20. JONES, T.; KELLUM, M.; PORTER, S.; BELL, M.; SCHAFFNER, W. 2002. An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg. Infect. Dis.* 8(1):82-84.
21. KLUYTMANS, J.; van LEEUWEN, W.; GOESSENS, W.; HOLLIS, R.; MESSER, S.; HERWALDT, L.; BRUINING, H.; HECK, M.; ROST, J.; van LEEUWEN, N. 1995. Food-initiated outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* analyzed by pheno- and genotyping. *J. Clin. Microbiol.* 33(5):1121-1128.
22. MEJÍA, C.; ZURITA, J.; GUZMÁN-BLANCO, M. 2010. Epidemiology and surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. *Braz. J. Infect. Dis.* 14(2):79-86.
23. MEHROTRA, M.; WANG, G.; JOHNSON, W. 2000. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. *J. Clinical Microbiol.* 38(3):1032-1035.
24. MOELLERING, R. 2012. MRSA: the first half century. *J. Antimicrob. Chemother.* 67(1):4-11.
25. MOON, J.; LEE, A.; KANG, H.; LEE, E.; KIM, M.; PAIK, Y.; PARK, Y.; JOO, Y.; KOO, H. 2007. Phenotypic and genetic antibiogram of methicillin-resistant staphylococci isolated from bovine mastitis in Korea. *J. Dairy Sci.* 90 (3):1176-1185.
26. NORMANNO, G.; CORRENTE, M.; LA SALANDRA, G.; DAMBROSIO, A.; QUAGLIA, N.; PARISI, A.; GRECO, G.; BELLACICCO, A.; VIRGILIO, S.; CELANO, G. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. *Int. J. Food Microbiol.* 117:219-22.
27. NTC 4779. 2007. Norma Técnica Colombiana. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de Estafilococos coagulasa positiva (*Staphylococcus aureus* y otras especies). Bogotá, D.C.: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). URL Disponible desde Internet en: <http://tienda.icontec.org/brief/NTC4779.pdf> (con acceso el 12/11/2014).
28. OGATA, K.; NARIMATSU, H.; SUZUKI, M.; HIGUCHI, W.; YAMAMOTO, T.; TANIGUCHI, H. 2012. Commercially distributed meat as a potential vehicle for community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 78(8):2797-2802.
29. PINCHUK, I.; BESWICK, E.; REYES, V. 2010. Review *Staphylococcal* enterotoxins. *Toxins.* 2:2177-2197.
30. ROSEC, J.; GIGAUD, O. 2002. Staphylococcal enterotoxin genes of classical and new types detected by PCR in France. *Int. J. Food Microbiol.* 77:61-70.
31. SHANEHBANDI, D.; BARADARAN, B.; SADIGH-ETEGHAD, S.; ZARREDAR, H. 2014. Occurrence of methicillin resistant and enterotoxigenic

- Staphylococcus aureus* in traditional cheeses in the north west of Iran. ISRN Microbiology. 2014. 5p. doi:10.1155/2014/129580.
32. SHAHRAZ, F.; DADKHAH, H.; KHAKSAR, R.; MAHMOUDZADEH, M.; HOSSEINI, H.; KAMRAN, M.; BOURKE, P. 2012. Analysis of antibiotic resistance patterns and detection of *mecA* gene in *Staphylococcus aureus* isolated from packaged hamburger. Meat Sci. 90(3):759-63.
33. SMYTH, R.; KAHLMETER, G.; OLSSON, L.; HOFFMAN, B. 2001. Methods for identifying methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J. Hosp. Infect. 48:103-107.
34. VANDERHAEGHEN, W.; CERPENTIER, T.; ADRIAENSEN, C.; VICCA, J.; HERMANS, K.; BUTAYE, P. 2010. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows. Vet. Microbiol. 144(1-2):166-171.
35. VANEGAS, M.; GONZÁLEZ, L.; MARTÍNEZ, A.; BUITRAGO, F. 2008. Aislamiento y caracterización de cepas de *Staphylococcus enterotoxigénicos* aislados de quesos en Bogotá. Rev. MVZ Córdoba. 13(2):1288-1293.
36. VANEGAS, C.; MORENO, J.; RAMOS, V.; CHIRIVI, J.; GARZÓN, A.; AREVALO, S.; MARTÍNEZ, M.; GARDEAZÁBAL, P.; BAQUERO, C. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from Colombian foods. Bio. 2:61-67.
37. VOSS, A.; LOEFFEN, F.; BAKKER, J.; KLAASSEN, C.; WULF, M. 2005. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. Emerg. Infect. Dis. 11(12):1965-1966.
38. WANG, X.; LI, G.; XIA, X.; YANG, B.; XI, M.; MENG, J. 2014. Antimicrobial susceptibility and molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in retail foods in Shaanxi, China. Foodborne Pathog. Dis. 11(4):281-286.
39. WEESE, J.; AVERY, B.; REID-SMITH, R. 2010. Detection and quantification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in retail meat products. Lett. Appl. Microbiol. 51(3):338-342.

Recibido: Octubre 27 de 2014

Aceptado: Marzo 16 de 2015

Cómo citar:

Herrera A., F.; Santos B., J. 2015. Presencia de *Staphylococcus aureus* meticilina-resistentes en queso doble crema artesanal. Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient. 18(1): 29-37.