



Rev. Costarricense de Salud Pública, 2015, vol. 25-2 (113-121)

Artículo Original

Caracterización microbiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* en productos cárnicos comercializados en Cartagena, Colombia

Microbiology and Molecular Characterization of *Staphylococcus aureus* in meat products marketed in Cartagena, Colombia

Lersy López G.¹, Alfonso Bettin M.², Héctor Suárez M.³

1. Bacterióloga. Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad del Sinú EBZ seccional Cartagena, Escuela Nutrición y Dietética, leryslopez@gmail.com
2. Biólogo. Magíster en Microbiología Clínica, Universidad del Sinú EBZ seccional Cartagena, Escuela de Medicina, alfonsobettin@yahoo.com
3. Médico Veterinario Zootecnista, PhD en Ciencia de los Alimentos, Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos ICTA, hsuarezm@unal.edu.co

Recibido: 14 de marzo del 2014 Aceptado: 07 de noviembre del 2014

Resumen

Staphylococcus aureus en la actualidad no solamente hace parte de los microorganismos nosocomiales sino también de enfermedades transmisibles por alimentos-ETAs.

Objetivo: Cuantificar y caracterizar por metodología microbiológica convencional y análisis molecular *Staphylococcus aureus* presente en carne de res y cerdo.

Método: Fueron utilizadas 160 muestras de carne molida de res y chuleta de cerdo, en 40 expendios de tres localidades de la ciudad de Cartagena: 1. Histórica y del Caribe Norte (LH); 2. Industrial de la Bahía (LI); 3. De la Virgen y Turística (LV). Para la identificación microbiológica fue utilizada la técnica de recuento en placa y la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR).

Resultados: La metodología microbiológica convencional identificó *Staphylococcus aureus* en el 100 % de las muestras. La técnica PCR confirmó la presencia de *Staphylococcus aureus* en el 88 %. El 72 % de los expendios presento recuentos > 100 UFC/g, 27 % presentaron recuentos < 100 UFC/g. La localidad industrial de la Bahía presento (48,2 %),

seguido de la localidad Histórica y del Caribe Norte con 34,4 %.

Discusión: El 32,5 % de los expendios analizados comercializan carne molida y chuleta de cerdo no apta para el consumo humano, por presentar recuentos que sobrepasan los parámetros de referencia para *Staphylococcus aureus* en carnes crudas picadas y molidas (100 – 1000 UFC/g). Fue determinada la presencia del gen *MecA* que codifica las cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a Meticilina (SARM) en dos muestras que por metodología molecular no corresponde a *Staphylococcus aureus*.

Palabras claves: Inocuidad de los alimentos, carne, alimentos, bacterias.

Abstract

Staphylococcus aureus at present not only is part of nosocomial microorganisms but also of food - borne diseases.

Objective: quantify and characterize by conventional microbiological and molecular analysis methodology to *Staphylococcus* in beef and pork meat.

Method: They were used 160 samples of ground beef and pork chop, 40 outlets in

three locations in the city of Cartagena: 1. Historic North and Caribbean (LH) 2. Bay Industrial (LI) 3. Virgin and Tourism (LV). For microbiological identification was used the plate count technique and the technique of Polymerase Chain Reaction (PCR).

Results: The conventional microbiological methods *Staphylococcus aureus* was identified in 100 % of samples, while the PCR confirmed the presence of *Staphylococcus aureus* in 88 %. In 72 % of outlets were found counts > 100 CFU/g, 27 % had counts < 100 CFU/g. The highest percentage was found in the industrial town of Bay (48,2 %), followed by the Historical town and North Caribbean with 34,4 %. 32,5 % of analyzed are marketing outlets and ground pork chop unfit for human consumption meat, to present counts that exceed benchmarks for *Staphylococcus aureus* in raw meat chopped and ground (100-1000 CFU/g). It was determined the presence of the *MecA* gene encoding strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in two samples by molecular methods is not for *Staphylococcus aureus*.

Key words: food safety, meat, food, bacteria.

Introducción

Staphylococcus aureus, hace parte de la familia de los cocos Gram positivos y forma parte de la familia *Micrococcaceae* (1). El cual origina gran número de enfermedades y constituye uno de los agentes etiológicos que causan diversas patologías en el humano como infecciones de piel y tejidos blandos hasta bacteriemias (2). Aunque este microorganismo puede hacer parte de la microbiota humana, tradicionalmente es considerado patógeno porque está relacionado con infecciones nosocomiales, sin embargo, en la actualidad tiene importancia por la diseminación en la población (3,4).

Staphylococcus aureus es una bacteria mesófila aerobia facultativa, capaz de crecer en amplios rangos de pH y A_w . Es uno de los patógenos humanos asporógenos, resistente a condiciones ambientales adversas, logrando persistir a temperaturas de congelación y descongelación. Las concentraciones máximas de sal que permiten el crecimiento dependen de factores como: temperatura, pH, potencial redox, entre otros. Un millón de células de *Staphylococcus* por mililitro o gramo de alimentos puede ser inactivado a temperatura de 66 °C durante 12 minutos o 60 °C durante 78 - 83 minutos (5).

Otro aspecto del *Staphylococcus aureus* es la capacidad para producir toxiinfección alimentaria, en este sentido las bacterias pueden multiplicarse rápidamente en los alimentos y generar un gran número de colonias de bacterias sin que exista evidencia de descomposición del alimento. Los factores de riesgo están asociados a las siguientes condiciones: Ingestión de alimentos preparados por una persona con infección en la piel, dado que estas infecciones comúnmente contienen *Staphylococcus aureus*. Ingestión de alimentos preparados en forma inadecuada o conservados en temperaturas inadecuadas (6Kérouanton, *et al.*, 2007).

De otra parte, también es considerado que los alimentos pueden ser contaminados con exudados de carnes de aves, res y cerdo (7 Kenneth y Wener, 2007). En Colombia, según la información registrada en el Sistema de Vigilancia en Salud Pública (8SIVIGILA) durante el año 2009 fueron reportados 899 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, de los cuales solo en el 56 % fue identificado el agente patógeno. Según distribución por tipo de agente, el 18,4 % corresponde a la presencia de *Staphylococcus* coagulasa positiva, tanto en alimentos (79 %), como en muestras



Caracterización microbiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* en productos cárnicos comercializados en Cartagena, Colombia

biológicas (12,7 %) y superficies (8,5 %); lo cual evidencia que es la primera causa de brotes de origen alimentario en el territorio nacional (8SIVIGILA, 2010). El objetivo de esta investigación fue cuantificar e identificar por técnicas moleculares *Staphylococcus aureus* presente en alimentos de origen cárnico comercializados en la ciudad de Cartagena, Colombia.

Materiales y métodos

Obtención de la muestra

En este estudio de tipo descriptivo observacional fueron analizados 40 expendios distribuidos en tres localidades de la Ciudad de Cartagena: 19 (47,5 %) en la Localidad Histórica y del Caribe; 16 (40 %) en la localidad Industrial de la Bahía; y 5 (12,5 %) en la localidad Virgen y Turística; donde el criterio estadístico para la selección de expendios que comercializaban los dos tipos de carne fue: varianza estimada en 0,19, de acuerdo con investigación preliminar; error del 5 % y probabilidad mínima del 75 %. Los expendios (unidades de muestreo) fueron seleccionados aleatoriamente, en cada expendio fueron tomadas entre 100 - 300 g de los dos tipos de carne: carne molida de res y carne de chuleta de cerdo. En cada unidad de muestreo, fueron tomadas muestras por duplicado. La lectura de las muestras fue realizada con base a Norma Sanitaria RM 615-2003 Codex Alimentarium (9), la cual establece como criterio de calidad aceptable para carnes picadas y molidas un rango de 100 -1000 UFC/g. La toma de muestra fue realizada desde el mes de julio de 2012 hasta el mes mayo de 2013, teniendo en cuenta las directrices establecidas en la Norma Técnica Colombiana NTC 4491-2 (10).

Análisis microbiológico.

Las muestras para el análisis fueron debidamente rotuladas, refrigeradas a 4°C

y transportadas para el procesamiento al laboratorio de Ciencia de los Alimentos de la Universidad del Sinú EBZ seccional Cartagena. Fue realizado cultivo microbiológico para recuento de *Staphylococcus aureus* mediante la técnica de recuento en placa, en agar Baird Parker (Merck), el procedimiento consistió en realizar tres diluciones seriadas por muestras (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}), sembrar en cajas de Petri por duplicado de cada dilución, luego las cajas fueron incubados durante 48 horas a 35 °C, según el manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA, 1998) y la Norma Técnica Colombiana NTC 4779 (12).

Los cultivos fueron considerados presuntivos para crecimiento de *Staphylococcus aureus* cuando fueron observadas colonias negras por la reducción de telurito a telurio que es adicionado al medio de cultivo, doble halo alrededor de la colonia por la presencia del fenómeno de lipólisis y proteólisis producidas por la acción de lipasas y proteasas presentes en este género bacteriano (Murray y Pfaller, 2007). Los cultivos con crecimiento presuntivo de *Staphylococcus aureus* fueron confirmados con métodos microbiológicos de rutina. Fue realizado conteo de colonias y expresado en UFC/g. Las muestras en las cuales no fue observado crecimiento fueron reportadas como < 100 UFC/g, fueron realizados controles de especificidad y sensibilidad de los medios de cultivos con la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Identificación molecular

El ADN genómico de cada aislamiento fue obtenido de acuerdo con el protocolo descrito por Bettin *et al.*, (2012)13. Cada *Staphylococcus aureus* presuntivo fue

cultivado en agar Plate Count (Merck) e incubado durante 24 horas a 37 °C. Cinco colonias fueron suspendidas en 1mL de Tris 0,5 M y centrifugado a 13,000 rpm x 5 min. El sobrenadante se desechó y el sedimento se resuspendió en 0,5 mL de tampón TE (10 mL de Tris y 1 mL de EDTA, el pH fue mantenido en 8,0) y sometido a 100 °C durante 30 min, posteriormente fue congelado a - 35 °C durante 20 minutos, descongelado a 65 °C, y finalmente fue centrifugado a 13,000 rpm durante 15 min. El ADN bacteriano contenido en el sobrenadante fue recogido en un tubo limpio y almacenado a - 20 °C para posterior amplificación del ADN por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa multiplex (PCR).

Ensayos de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR)

El ADN obtenido fue sometido a PCR para amplificar el gen de la Nucleasa termoestable (gen Nuc) específica del *Staphylococcus aureus*, fue amplificado un fragmento de 300 pb del gen de acuerdo a lo descrito por Bettin *et al.*, (2012)13. Fueron utilizados como control las cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 y ATCC 25923. El ADN fue amplificado en un volumen de reacción de 25uL que contenía 12,5 uL de la mezcla de PCR (PCR master Mix; Promega), 0,2 uM de cada cebador y 5uL de ADN molde. La reacción fue realizada en un termociclador Axigen bajo las siguientes condiciones: ciclo inicial de desnaturalización a 94 °C por 5 min, seguido por 30 ciclos de 94 °C por 1 min, 50 °C por 1 min, y 72 °C por 2 min, con un ciclo de extensión final a 72 °C por 10 min. Todos los productos fueron visualizados en Gel de agarosa al 1,5 % con bromuro de etidio (0,5 ug/mL), mediante un transiluminador de luz UV.

Resultados

Se analizaron un total de 40 expendios de los cuales se tomaron 160 muestras, 80 muestras de carne molida de res y 80 muestras de carne de chuleta de cerdo. 76 (47,5 %) muestras de la localidad Histórica y del Caribe Norte (LH), 64(40 %) muestras de la localidad Industrial de la Bahía (LI) y 20 (12,5 %) muestras de la Localidad Virgen y Turística (LV).

En la tabla 1 y figura 1 son presentados los resultados del análisis de expendios y recuentos de *Staphylococcus aureus*. De los 40 expendios analizados, en 29 locales (72,5 %) fueron obtenidos recuentos > 100 UFC/g presuntivo de *Staphylococcus aureus*, de acuerdo a características macroscópica del cultivo, en 11 expendios (27,5 %) se obtuvo recuentos < 100 UFC/g.

Tabla 1. Crecimiento presuntivo de *Staphylococcus aureus* distribuidos por localidades en la ciudad de Cartagena

Localidad				
Localidad	LH	LI	LV	Total expendios
Numero expendios	10	14	5	29
Participación	34.4 %	48.20 %	12.4 %	100%

Fuente: Elaboración propia

De los 29 expendios en los cuales se obtuvo crecimiento en agar, el mayor número de expendios contaminados correspondió a la localidad Industrial de la Bahía LI (tabla 1). En la figura 2 es mostrado el crecimiento presuntivo de *Staphylococcus aureus*. De los 40 expendios, se analizaron mediante cultivo 160 muestras, encontrándose 47 % de las

Caracterización microbiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* en productos cárnicos comercializados en Cartagena, Colombia

muestras con recuentos mayores a 100 UFC/g y 53 % de las muestras con recuentos menores a 100 UFC/g. Del 47 % de muestras con crecimiento presuntivo para *Staphylococcus aureus*, corresponden a carne molida de res 59 % y 49 % a carne de chuleta de Cerdo.

En la tabla 2 son presentados los resultados de los recuentos de colonias presuntivas de *Staphylococcus aureus* distribuidas por expendios. De los 29 expendios con crecimiento presuntivo de *Staphylococcus aureus* se encontró el 55 % de expendios con recuentos entre 100 - 1000 UFC/g y el 45 % de expendios con recuentos > 1000 UFC/g, el 69 % de las muestras se encontraron dentro de los parámetros de referencia (100–1000 UFC/g) y el 31 % de las muestras presentaron recuentos superiores a lo establecidos en Norma sanitaria RM615-2003 Codex Alimentariun. De las cuales el 57 % de las muestras fueron tomadas en la localidad Industrial de la Bahía (LI).

En la figura 3 son presentados los resultados del análisis por electroforesis de PCR realizada a bacterias aisladas de muestras de carne de chuleta de cerdo y carne molida de res. Las 75 muestras con crecimiento presuntivo de *Staphylococcus aureus* fueron verificadas por la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), fueron confirmadas como *Staphylococcus aureus* un total de 88 % de cepas, el 56 % de las cepas fueron aisladas de carne molida de Res y el 44 % de las cepas de carne de chuleta de cerdo. El 12 % de los aislados no correspondieron a la especie *aureus*, pertenecían a las muestras identificadas con los códigos: 9CM2, 11CC1, 15CM2, 23CM1, 23CC1, 24CC1, 30CM1, 53CM1 y 55CM1. En dos de estas cepas identificadas como *Staphylococcus saprophyticus* (23CM1 y *Staphylococcus warneri* 24CC1) fueron obtenidos recuentos > 1000 UFC/g y se encontró la presencia del gen MecA. Los

resultados indican que de los 9 géneros bacterianos que no correspondieron a *Staphylococcus aureus*, 4 cepas fueron identificadas como *Staphylococcus saprophyticus* y 5 cepas como *Staphylococcus warneri*.

En la figura 3 muestra el resultado de la electroforesis donde dos de las muestras 15 CM2 y 23CC1, muestran la ausencia del gen Nuc que codifica la enzima Nucleasa Termoestable específica de *Staphylococcus aureus*.

Tabla 2. Recuentos de colonias presuntivas de *Staphylococcus aureus* distribuidas por expendios

RECUE- TOS	EXPEN- DIOS	%	MUEST- RAS	%
100 – 1000 UFC/g	16	55	52	69
>1000UF C/g	13	45	23	31

Fuente: Elaboración propia

Los resultados de las cepas de *Staphylococcus aureus* confirmadas por la técnica de PCR muestran que de los 16 expendios en los cuales se obtuvo 52 muestras con recuentos entre 100–1000 UFC/g, el 86,5 % de cepas se confirmaron como *Staphylococcus aureus* por la técnica de PCR y el 13,5 % cepas fueron identificadas como no *Staphylococcus aureus*. De los 13 expendios en los cuales se obtuvo 23 muestras con recuentos > 1000 UFC/g, el 91,3 % de cepas se confirmaron como *Staphylococcus aureus* por PCR, y el 8,7 % no son *Staphylococcus aureus*. De estas el 76 % provenían de carne molida de res y el 24 % de chuleta de cerdo.

Figura 1. Total de expendios con recuentos presuntivos de *Staphylococcus aureus* en la ciudad de Cartagena

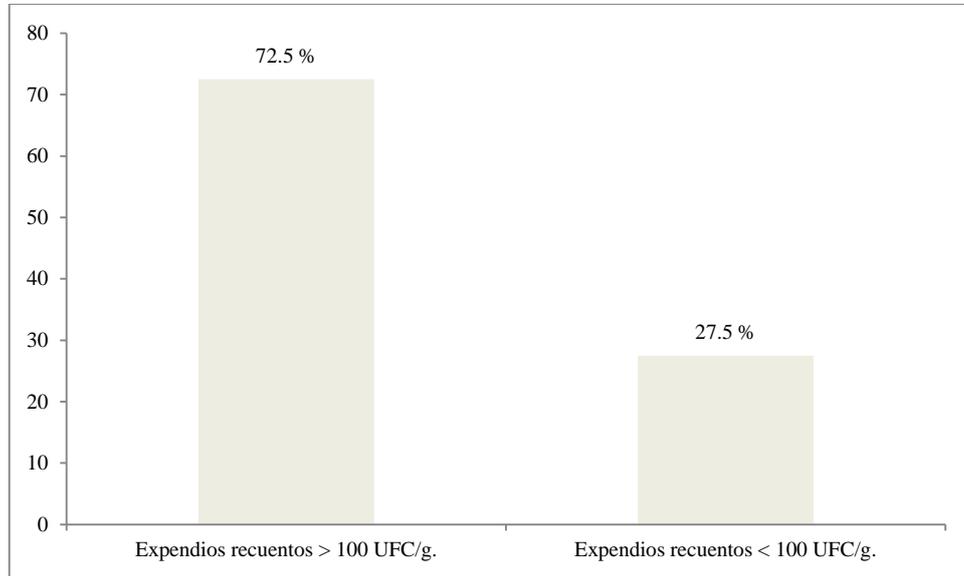


Figura 2. Muestras con crecimiento presuntivo de *Staphylococcus aureus* en carne molida de res y chuleta de cerdo.

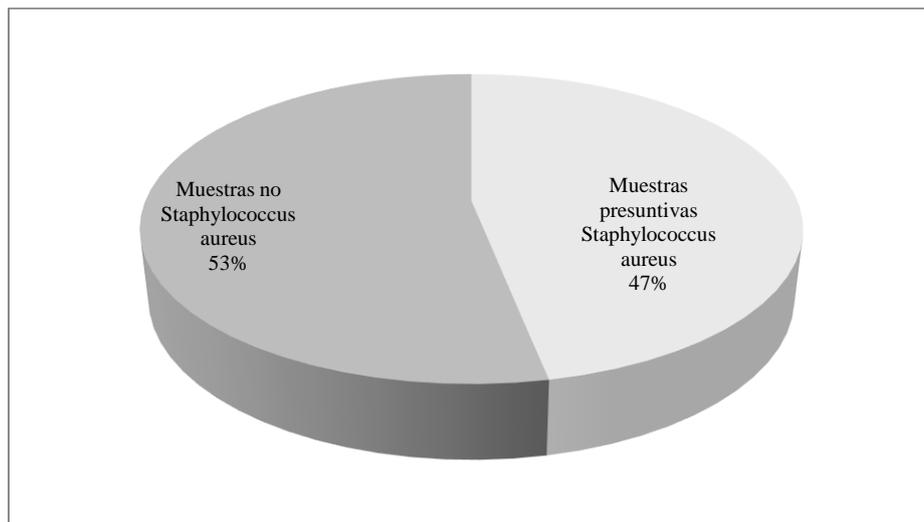
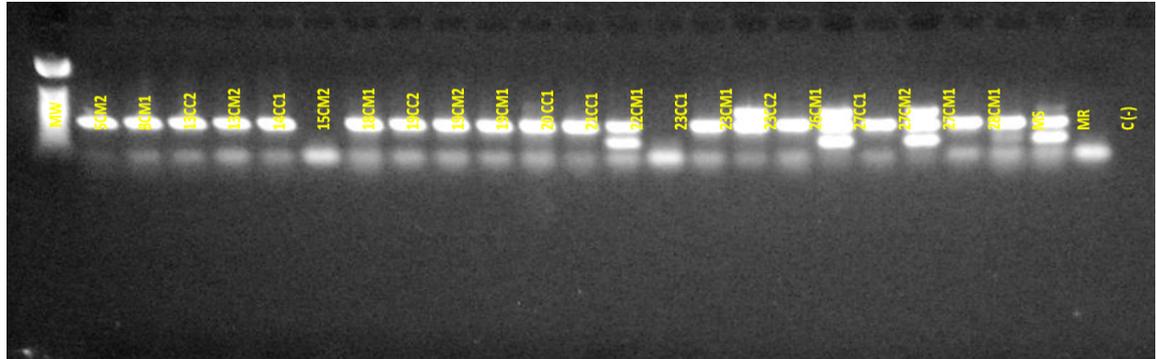


Figura 3. Electroforesis de PCR realizada a bacteria aislada de muestras de carne de chuleta de cerdo y carne molida de res.



Discusión

La presencia de *Staphylococcus aureus* en los alimentos de origen cárnico en concentraciones elevadas podrían tener un impacto sobre la salud de los consumidores, porque pueden presentar infecciones graves por este microorganismo ya que los productos cárnicos son ampliamente consumidos en el país, en un estudio sectorial de carne bovina en Colombia de la superintendencia de Industria y Comercio (2009 – 2011)¹⁴, se observa un incremento en el 2010 en el consumo de carne bovina de 18,8 kg por habitantes por año, frente a un 17,3 % entre los años 2004 -2008 (15 FEDEGAN, 2012). La Asociación Nacional de Industriales (ANDI) indica que el consumo de carne de res es de 18 kg y el de cerdo, es de 4,1 kg por persona (16 DANE, 2011).

Nuestros resultados se correlacionan con diversos estudios donde uno de los principales focos de contaminación para *Staphylococcus aureus* y especialmente con presencia del gen MecA es la carne de cerdo (17Agersø et al., 2012). Igualmente un estudio realizado en Iowa, E.U. en 2011, en el que fueron analizadas muestras de carne cruda de cerdo, pollo, carne de res y pavo de 22 expendios de

alimentos. En el estudio fueron aisladas 27 cepas de *Staphylococcus aureus* de 165 muestras, dando una prevalencia general del 16,4 %. En las carnes de pavo, cerdo, pollo y carne de res individuales se encontró una prevalencia de *Staphylococcus aureus* de 19,4 %, 18,2 %, 17,8 % y 6,9 %, respectivamente (18 Hanson et al., 2011). De otra parte 19 Gonzalez et al., (2005), considera importante diferenciar *Staphylococcus* con resistencia intrínseca a meticilina mediante la detección del gen *mecA* donde este puede ser detectado por PCR, aunque este método todavía no es de obligatoriedad en el análisis de la detección de *Staphylococcus*. En este sentido la detección de esta resistencia es complicada ya que el gen *mecA* podría existir en las cepas de *S. aureus* y en SCN.

En Colombia el Instituto Nacional de Salud INS (20) con base en información suministrada por once direcciones territoriales de salud de Colombia (DTS) para los años 2007 a 2010, encontró que de un total de 6,113 alimentos, estaban contaminados con *Staphylococcus* coagulasa positiva, 2,779 (45,46 %) que corresponden al grupo de alimentos preparados no industriales. De estos últimos, 2,672 (96,15%) reportaron

recuento menor de 100 UFC/g y 107 (3,85%) mayor de 100 UFC/g. Este estudio recomienda la implementación adecuada de programas de limpieza, desinfección y capacitación de los manipuladores, como estrategia de prevención de la contaminación, contaminación cruzada y recontaminación (20 INS, 2011).

Según información registrada en el Sistema de Vigilancia en Salud Pública en Colombia (SIVIGILA) durante el año 2009 se presentaron 899 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. Según distribución por tipo de agente, el 18,4 % corresponde a la presencia de *Staphylococcus* coagulasa positiva, tanto en alimentos (79 %), como en muestras biológicas (12,7 %) y superficies (8,5 %); lo cual evidencia que es la primera causa de brotes de origen alimentario en el territorio nacional (8 SIVIGILA, 2007-2010).

Con relación a las técnicas utilizadas en la investigación podemos decir que la técnica de PCR se constituye en una herramienta importante en la identificación de *Staphylococcus aureus* en alimentos ya que los resultados obtenidos por técnicas tradicionales pueden presentar falsos positivos, esto ha sido ampliamente reconocido en otras investigaciones (13 Bettin *et al.*, 2012), evento que muestra la necesidad de implementar técnicas moleculares en el control de ETAs.

Conclusiones

El 32,5 % de los expendios de la ciudad de Cartagena incluidos en este estudio están comercializando carne molida de res y carne de chuleta de cerdo no apta para el consumo humano por presentar recuentos de *Staphylococcus aureus* > 1000 UFC/g. La localidad en la cual se obtuvo recuentos superiores a lo establecido en la norma se encuentra el 33

% de los barrios de la Ciudad de Cartagena, el cual concentra la población de estratos 2, 3 y 4.

Agradecimientos

A Liris González, auxiliar del Laboratorio Ciencias de los Alimentos, estudiantes semillero Innovación e Inocuidad de la Escuela de Nutrición y Dietética de la Universidad del Sinú EBZ Seccional Cartagena y al Laboratorio de Investigaciones de la Universidad de Cartagena, Colombia.

Referencias

1. Murray Patrick R, Pfaller Michael A. (2007) Microbiología médica. 5a ed. Últ. Reimpr. Elsevier España. Pg 221-236. ISBN 0323 03303 2
2. Larsen AR, Steagerm, Böcher S, Sourm M, Monnet DL, Skou RL. Emergence and characterization of community associated Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus* Infection in Denmark, 1999 to 2006. J Clin Microbiol. 2009; 47 (1): 73-78. ISSN: 0095-1137
3. Ho J, O'Donoghue M.M, Boost M.V. Occupational exposure to raw meat: A newly-recognized risk factor for *Staphylococcus aureus* nasal colonization amongst food handlers. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 2014; 217: 347– 353. ISSN: 1438-4639,
4. Gordon R, Lowy F. (2008) Pathogenesis of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Infection Clin Infect Dis ;46: 350 -89. ISSN: 1537-6591
5. Jay JA, Loessner MJ, Golden DA. (2005) Intrinsic and extrinsic parameters of foods that affect microbial growth. In: Heldman DR (ed) Modern Food Microbiology. Springer Science, New York, pp. 39-59. ISBN O-387-23180-3
6. Kérouanton A, Hennekinne JA, Letertre C, Petit L, Chesneau O, Brisabois A, De Buyser ML. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France. Int J Food Microbiol. 2007; 115(3):369-75. ISSN 0168-1605.
7. Kenneth M, Wener MD, (2007) Department of Infectious Diseases. Lahey Clinic, Burlington, MA. Review provided by Veri Med Healthcare Network. ISBN 978-0-4430-6839-3.
8. SIVIGILA Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública. (2007 – 2010).



Caracterización microbiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* en productos cárnicos comercializados en Cartagena, Colombia

- Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Bogotá. Disponible en: <http://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/MANUAL%20DEL%20USU%20ARIO%20SIVIGILA%202010.pdf>. Consultado en diciembre del 2013.
9. Norma sanitaria que establece los criterios Microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. RM N° 615-2003 SA/DM. Codex Alimentariun.
10. ICONTEC Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (2004) NTC 4491-2, Microbiología de alimentos y de alimentos para animales. Preparación de muestras para ensayo, suspensiones iniciales y diluciones decimales para los análisis microbiológicos. Parte 2: Reglas específicas para la preparación de carne y productos cárnicos.
11. Manual de Técnicas de Análisis para Control de Calidad Microbiológico de Alimentos para Consumo Humano. (1998) Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Vigilancia de Alimentos y Medicamentos INVIMA. Bogotá, Colombia.
12. Instituto Colombiano Norma Técnica. ICONTEC. (2007) NTC 4779. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de *Staphylococcus coagulasa positiva (Staphylococcus aureus* y otras especies).
13. Bettin A, Causil C, Reyes N. Molecular identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* nasal isolates from medical students in Cartagena, Colombia. *Braz J Infect Dis*. 2012; 16(4):329-34. ISSN 1413-8670.
14. Estudio sectorial Carne Bovina en Colombia (2009 – 2011) Superintendencia de Industria y Comercio http://www.sic.gov.co/recursos_user/documentos/publicaciones/pdf/Carne2012.pdf. Consultado en diciembre del 2013.
15. FEDEGAN Federación Colombiana de Ganaderos (2012). Estadísticas Archivo de datos. Disponible en: http://portal.fedegan.org.co/portal/page?_pageid=93,158487&_dad=portal&_schema=PORTAL.
16. DANE Departamento Administrativo Nacional de Estadística. (2011). Resultados Encuesta Nacional Agropecuaria. Bogotá: Disponible en: http://www.agronet.gov.co/www/htm3b/public/ENA/ENA_2011.pdf. Consultado en noviembre del 2013.
17. Agersø Y, Hasman H, Cavaco LM, Pedersen K, Aarestrup FM. Study of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Danish pigs at slaughter and in imported retail meat reveals a novel MRSA type in slaughter pigs. *Veterinary Microbiology*. 2012; 157: 246–250. ISSN. 1873-2542.
18. Hanson B, Dressler A, Harper A, Scheibel R, Wardyn S, Roberts L, Kroeger J, Smith T. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant (MRSA) on retail meat in Iowa. *Journal of Infection and Public Health*. 2011; 4: 169-174. ISSN 1876-0341.
19. González L, Ramos A, González M, Nadal L, Chacon L, Morffi J, Garcés A, Vallin C. Frecuencia de Aislamientos de *Staphylococcus spp* Meticilina Resistente en el Hospital Pediátrico "William Soler". *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*. 2005; 36: 20-27. ISSN 0253-5688.
20. INS Instituto Nacional de Salud. (2011). Evaluación de riesgos de *Staphylococcus aureus* Enterotoxigénico en alimentos preparados no industriales en Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Unidad de Evaluación de Riesgos para la Inocuidad de los Alimentos UERIA. Bogotá D.C. Disponible: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/investigacion/ueria/Publicaciones/ER%20STAPHYLOCOCCUS.pdf>. Consultado en diciembre del 2013.