



**Universidad**  
Zaragoza

## Trabajo Fin de Máster

*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a ganado porcino: implicación en clínica y epidemiología humana y evaluación del riesgo sanitario

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* livestock associated: involvement in clinical and human epidemiology and health risk assessment

Alumna: Fabiola Peiró Codina

Directoras: Carmen Aspiroz Sancho

Pilar Conchello Moreno

M<sup>a</sup> Carmen Rota García

Máster en Salud Pública

Facultad de Medicina

Diciembre 2019

## Tabla de contenido

RESUMEN .....	2
PALABRAS CLAVES .....	3
ABSTRACT .....	4
KEYWORDS .....	5
ABREVIATURAS .....	6
INTRODUCCIÓN .....	7
Generalidades .....	7
Factores de virulencia .....	7
Infecciones por <i>S. aureus</i> .....	8
Mecanismos de resistencia antibiótica .....	10
Resistencia a $\beta$ -lactámicos.....	10
Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas .....	11
Resistencia a tetraciclinas .....	11
Resistencia a aminoglucósidos .....	11
Resistencia a quinolonas .....	12
Resistencia a Acido fusídico.....	12
Resistencia a mupirocina.....	12
SARM, patogénesis y epidemiología .....	12
SARM asociado al hospital (SARM-AH) .....	12
SARM asociado a la comunidad (SARM-AC).....	13
SARM asociado a ganado (SARM-AG).....	13
JUSTIFICACIÓN .....	14
MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
Base de datos.....	15
Aislamiento e identificación de <i>S. aureus</i> .....	15
Tratamiento estadístico de los datos. ....	16
Revisión bibliográfica. ....	17
OBJETIVOS.....	19
RESULTADOS .....	20
DISCUSIÓN .....	26
Evaluación del riesgo de la contaminación alimentaria por SARM-AG (SARM CC398) para la salud humana.....	28
Caracterización del peligro .....	30
Evaluación de la exposición.....	31
Evidencia del riesgo real alimentario.....	32
CONCLUSIONES .....	34
BIBLIOGRAFÍA.....	35

## RESUMEN

*Staphylococcus aureus* es un agente patógeno oportunista que forma parte de la microbiota habitual de personas y animales. Puede producir colonización asintomática, lo que va a facilitar su diseminación y transmisión.

*S.aureus* frecuentemente adquiere determinantes genéticos de resistencia antibiótica (RAM) teniendo especial relevancia la resistencia a meticilina (SARM).

Es conocida la presencia de SARM en primer lugar en el ámbito hospitalario constituyendo el grupo denominado SARM asociado a hospital (SARM-AH). Posteriormente se describieron casos en los que se aislaba SARM en personas que no habían sido hospitalizadas ni habían tenido otros contactos con el sistema sanitario pasando a denominarse este nuevo grupo SARM adquirido o asociado a la comunidad (SARM-AC). El agente se comportaba de manera más agresiva que el anterior debido a la presencia de factores de virulencia como la toxina de Panton-Valentine.

En las últimas décadas, se ha comunicado la emergencia de SARM como un patógeno que puede colonizar o infectar a diferentes especies animales pasando a denominarse SARM asociado a ganado (SARM-AG). Estas cepas son importantes no sólo desde una perspectiva económica o de salud animal, sino que, al actuar como reservorio zoonótico, pueden transmitirse a través de la cadena alimentaria y causar infecciones en humanos.

La línea genética de SARM-AG más importante es la perteneciente al complejo clonal 398 (CC398) que está presente tanto en los animales de granja como en las personas que están relacionadas profesionalmente con estos animales. El marcador fenotípico de este complejo clonal es la resistencia a tetraciclina (Tet<sup>R</sup>) relacionado con el elevado consumo que tradicionalmente se ha hecho de este antimicrobiano.

Estas cepas actúan como reservorios genéticos de resistencia y podrían tener un papel muy importante en la evolución adaptativa de SARM.

Además, la emergencia de SARM en los animales de producción suscita una preocupación en lo que respecta al potencial papel que podrían tener los alimentos como vehículo de infección.

Para evaluar si la presencia de SARM-AG porcino tiene importancia clínica y epidemiológica en Medicina humana, se analizaron todos los aislados de *S.aureus* obtenidos durante los años 2016, 2017 y 2018 en el Hospital Royo Villanova (HRV) de Zaragoza (n=968 cepas).

Se evidenció que los pacientes con SARM tenían mayor edad que los pacientes con *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina (SASM), observándose diferencias de hasta 15 años; además se comprobó una mayor incidencia en mujeres.

El porcentaje de casos de SARM en el HRV fue de un 40%, cifra muy superior a la que se obtiene como media en España y que se sitúa en el 26% en enfermedades invasivas (EARS 2017, ECDC).

Además de relacionarse con la evolución de la población atendida en los hospitales en general (pacientes más ancianos, con importante comorbilidad, tratamientos antibióticos previos, sometidos a procedimientos invasivos, con más implantes y prótesis, etc.) el enclave particular del hospital en un sector sanitario con numerosas residencias de ancianos contribuye sin duda a la más elevada prevalencia de SARM.

Por otro lado, también es más elevado el porcentaje de SARM Tet<sup>R</sup> con respecto a SARM, situándose entre el 9-12%. Este hecho puede ser debido a otra particularidad de nuestro sector y de nuestro hospital con una elevada densidad de granjas de porcino en el entorno.

El tipo de muestra clínica provenía mayoritariamente de piel y partes blandas seguido de las de tracto respiratorio lo que concuerda con las características de colonización y transmisibilidad de *S.aureus*.

Los datos de resistencia a diferentes grupos antibióticos reflejan distinto perfil según se trate de SASM o de SARM siendo en estos últimos los porcentajes más elevados y presentando una mayor multi-resistencia a varios de los antibióticos estudiados, patrón que se confirma en los tres años objeto del presente trabajo.

Los datos obtenidos avalan la idea de que cada vez más, SARM CC398 es un linaje frecuente y emergente a nivel hospitalario, lo que lleva aparejada la necesidad de plantearse nuevas estrategias terapéuticas dado el incremento de RAM que manifiestan.

Aragón es actualmente la Comunidad Autónoma con más ganado porcino de España, habiendo superado a Cataluña, tradicionalmente a la cabeza. Es por ello que debemos tenerlo presente tanto en la atención de todo paciente con infección como en la entrada de pacientes presumiblemente colonizados por SARM en la atención sanitaria, especialmente en hospitalización. Sugerimos que la inclusión de preguntas tan sencillas como la profesión o el contacto con animales debería ser incluida en todas las anamnesis.

Por otro lado, la emergencia de la presencia de SARM en animales suscita un gran interés por la implicación que pudiera tener en la cadena alimentaria.

Aunque la prevalencia de SARM en los alimentos frescos es baja y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) considera de riesgo bajo el papel de los alimentos como vehículo para la colonización o infección en humanos, se han informado brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, habiéndose detectado la presencia de CC398 en distintos tipos de carne y de productos lácteos.

Los alimentos pueden ser también un factor importante para la transferencia de RAM al hombre; en el caso de SARM, dado el amplio fenotipo de resistencias antibióticas que manifiesta, puede convertirse en un motivo de preocupación sanitaria ya que se ha encontrado correlación entre perfiles de RAM y cepas de SARM aisladas en leche cruda y derivados cárnicos de aves de corral.

Dado que la resistencia antimicrobiana es considerada una prioridad, debería ser objeto de vigilancia el hallazgo de cepas de SARM en animales. Se trata de una cuestión a tener en cuenta no sólo desde un punto de vista económico o de salud animal, sino como reservorios zoonóticos y su transmisión a través de la cadena alimentaria causando infecciones e intoxicaciones en humanos.

## PALABRAS CLAVES

*Staphylococcus aureus* , resistencia a meticilina, ganado porcino, multi-resistencias, riesgo alimentario ,cerdos.

## ABSTRACT

*Staphylococcus aureus* is an opportunistic pathogen that is part of the usual microbiota of humans and animals. It can produce asymptomatic colonization, which will facilitate its dissemination and transmission.

*S. aureus* frequently acquires genetic determinants of antibiotic resistance (AMR), with methicillin resistance (MRSA) having special relevance.

The presence of MRSA is known first in the hospital: is the group called hospital-associated MRSA (MRSA-HA). After, cases were described in which MRSA was isolated in people who had not been hospitalized or had other contacts with the health system, becoming the new MRSA group acquired or associated with the community (MRSA-CA). The agent behaved more aggressively than the previous one due to the presence of virulence factors such as Panton-Valentine toxin.

In recent decades, the emergence of MRSA as a pathogen that can colonize or infect different animal species has become known as livestock-associated MRSA (MRSA-LA). These strains are important not only from an economic or animal health perspective, but, by acting as a zoonotic reservoir, they can be transmitted through the food chain and cause infections in humans.

The most important MRSA-LA genetic line is that belonging to clonal complex 398 (CC398) that is present in both farm animals and people who are professionally related to these animals. The phenotypic marker of this clonal complex is tetracycline resistance (Tet<sup>R</sup>) related to the high consumption that has traditionally been made of this antimicrobial.

These strains act as genetic resistance reservoirs and could have a very important role in the evolution of MRSA.

In addition, the emergence of MRSA in production animals worried about the possible role that food could have as a vehicle of infection

To assess whether the presence of porcine MRSA-LA has clinical and epidemiological importance in human Medicine, all *S.aureus* isolates during the years 2016, 2017 and 2018 at the Royo Villanova Hospital (HRV) in Zaragoza were analyzed (n = 968 strains).

Patients with MRSA were older than patients with methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA), observing differences of up to 15 years; In addition, a higher incidence was found in women.

The percentage of MRSA in the HRV was 40%, much higher than the average obtained in Spain and which is 26% in invasive diseases (EARS 2017, ECDC).

In addition to the type of population treated in hospitals in general (older patients, with significant comorbidity, previous antibiotic treatments, undergoing invasive procedures, with more implants and prostheses, etc.), the hospital is located in a health area with numerous nursing homes that can contribute to the highest prevalence of MRSA.

On the other hand, the percentage of MRSA Tet<sup>R</sup> with respect to MRSA is also higher, being between 9-12%. This fact may be due to another peculiarity of our area and of our hospital with a high density of pig farms in the environment.

The type of clinical sample came mostly from skin and soft tissue, followed by those from the respiratory tract, which is consistent with the colonization and transmissibility characteristics of *S. aureus*.

The data on resistance to different antibiotic groups reflect a different profile depending on whether they are MSSA or MRSA, the latter being the highest percentages and presenting a greater multi-resistance to several of the antibiotics studied, a pattern that is confirmed in the three years object of the present work.

The data obtained support the idea that, increasingly, MRSA CC398 is a frequent and emerging lineage at the hospital, which emphasize the need to consider new therapeutic strategies given the increase in AMR they manifest.

Aragon is currently the Autonomous Community with the most pigs in Spain, having surpassed Catalonia, traditionally at the top. That is why we must keep it in mind in the care of all patients with infection and in the entry of patients presumably colonized by MRSA in health care, especially in hospitalization. We suggest that the inclusion of simple questions such as profession or contact with animals should be included in all the history.

On the other hand, the emergence of the presence of MRSA in animals has great interest in the implication that it could have in the food chain.

Although the prevalence of MRSA in fresh foods is low and the European Food Safety Authority (EFSA) considers low risk, the role of food as a vehicle for colonization or infection in humans, outbreaks of foodborne diseases have been reported, having detected the presence of CC398 in different types of meat and dairy products.

Food can also be an important factor for the transfer of AMR to humans; In the case of MRSA, given the broad phenotype of antibiotic resistance that it manifests, it can become a cause of health concern since correlation has been found between AMR profiles and MRSA strains isolated in raw milk and meat products from poultry.

Since antimicrobial resistance is considered a priority, the finding of MRSA strains in animals should be monitored. It is a question to consider not only from an economic or animal health point of view, but also as zoonotic reservoirs and their transmission through the food chain causing infections and intoxications in humans.

## KEYWORDS

*Staphylococcus aureus*, “methicillin-resistant”, “livestock”, “multiresistant”, “food risks”, “pigs”.

## ABREVIATURAS

ARN	Ácido ribonucleico
CC 398	Complejo Clonal 398
CMI	Concentración mínima inhibitoria
EARS	European Antimicrobial Resistance Surveillance
ECDC	Centro Europeo para la Prevención y el Control de las Enfermedades
EFSA	European Food Safety Authority
EGMs	Elementos genéticos móviles
EPINE	Estudio de prevalencia de infecciones nosocomiales en España
Fc	Fracción constante de Ig
FE-G	Factor de Elongación G
LPV	Leucocidina de Panton-Valentine
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds Ratio
PBP	Penicillin Binding Protein
RAM	Resistencia antimicrobiana
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
SARM-AC	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina asociado a la Comunidad
SARM-AG	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina asociado a Ganado
SARM-AH	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina asociado al Hospital
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible a meticilina
SCC	cassete cromosómico estafilocócico
SEA	Enterotoxina estafilocócica A
ST 398	Sequence Type 398
TSST	Toxina del Síndrome de Shock Tóxico
WHO	World Health Organization

# INTRODUCCIÓN

## Generalidades

El género *Staphylococcus* está encuadrado en la familia *Staphylococcaceae*, filo *Firmicutes* y orden *Bacillales*. Su nombre proviene de la raíz griega *staphyle* y *coccus* (racimo de uvas) que le viene dado por la forma que muestran estos microorganismos en las preparaciones teñidas (aunque en muestras clínicas pueden visualizarse aislados, en pares o como cortas cadenas).

Como aspectos generales son cocos Gram positivo, inmóviles, no forman esporas y pueden crecer tanto en atmósfera aeróbica como anaeróbica.

El género comprende 49 especies y 27 subespecies, siendo la especie *S. aureus* la más virulenta y la implicada con más frecuencia en la enfermedad humana<sup>1</sup>.

Las colonias de *S. aureus* que aparecen macroscópicamente en medios de cultivo no selectivos, son convexas, con un diámetro de 1-3 mm y, a veces, con un color amarillo o dorado que les confieren pigmentos carotenoides y que dan nombre a la especie. Si el medio de cultivo contiene sangre, van a producir  $\beta$ -hemólisis, lo que se traduce en un halo transparente alrededor de la colonia.

Tienen características bioquímicas específicas que permiten su identificación:

- **Son catalasa +.** Esta enzima descompone al peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. En contacto con la colonia emitirá efervescencia. La prueba es útil para diferenciar el género *Staphylococcus* de otros cocos Gram positivo.
- **Son coagulasa +.** Esta proteína convierte el fibrinógeno en fibrina. Permite diferenciar *S. aureus* de otras especies de estafilococos que no tienen la capacidad de producir coagulasa.
- **Son DNasa +.** Si hay desoxirribonucleasas, el ADN se despolimeriza produciendo una zona transparente alrededor del crecimiento. Permite diferenciarlo de *S. epidermidis* que carece de la enzima.
- Fermentan el manitol, reducen los nitratos a nitritos y pueden crecer con elevadas concentraciones de cloruro sódico.

Algunas especies de estafilococos se desarrollan en nichos muy específicos en los que se encuentran habitualmente. Por ejemplo, *S. aureus* coloniza las fosas nasales. Se estima que hasta el 30% de los adultos sanos pueden estar colonizados<sup>2</sup>, lo que puede suponer un mayor riesgo de contraer infecciones. Estos procesos infecciosos pueden ir desde infecciones relativamente leves de piel y partes blandas hasta entidades sistémicas que pueden suponer un compromiso vital como puedan ser endocarditis, bacteriemias o sepsis, incluyendo los casos graves de Síndrome del shock tóxico.

## Factores de virulencia

*S. aureus* forma parte de la microbiota habitual. La transición de la colonización a la infección se ve propiciada por la expresión de una serie de factores de virulencia que pueden ser de tipo estructural, enzimático o mediados por toxinas.



- Estructurales:

- Cápsula, compuesta por polisacáridos (se inhibirá la fagocitosis por parte de los leucocitos polimorfonucleares), peptidoglucanos (producen activación del complemento y la formación de interleucina-1 entre otros efectos) y ácidos teicoicos (estimulan una respuesta humoral específica cuando se unen al peptidoglucano).
- Proteínas de membrana (adhesinas) que facilitan la unión bacteriana a materiales implantados.
- Proteína A, inhibe la eliminación mediada por anticuerpos al unirse a la fracción constante (Fc) de la IgG.

- Enzimáticos:

- Catalasa: Protege del efecto tóxico del peróxido de hidrógeno.
- Coagulasa: Cataliza la conversión de fibrinógeno en fibrina provocando el depósito de *S. aureus*, que al estar cubierto por fibrina se vuelve menos inmunógeno.
- Hialuronidasa: Ayuda a la diseminación del estafilococo al destruir el ácido hialurónico en el tejido conjuntivo.
- DNasa: Hidrolizan el ADN.

- Toxinas:

1. Citotoxinas:

- ◇ Leucocidina de Panton-Valentine: provoca lisis celular mediada por la formación de poros.

2. Enterotoxinas:

- ◇ Asociadas a intoxicaciones alimentarias: Resisten la hidrólisis provocada por enzimas gástricos y yeyunales y son termoestables a 100 °C durante 30 minutos.

3. Toxinas exfoliativas:

- ◇ Proteasas de serina que destruyen los puentes intercelulares de del estrato granuloso de la epidermis (Síndrome de la piel escaldada).

4. Toxina del Síndrome del Shock Tóxico (TSST-1):

- ◇ Es un superantígeno que estimula la proliferación de linfocitos T y la liberación de citocinas, pudiendo ocasionar shock hipovolémico con insuficiencia multiorgánica.

### Infecciones por *S.aureus*

La clínica de las infecciones producidas por *S.aureus* es diversa: de relativamente benigna a situaciones de compromiso vital.

Para sistematizar las distintas afecciones, se podrían considerar las infecciones de piel y partes blandas y los procesos invasivos.

- **Infecciones de piel y partes blandas:**

- **Impétigo:** infección superficial predominantemente en cara y extremidades y más frecuente en niños. Puede ser primario (si la infección afecta a piel previamente normal) o secundario (asienta sobre epidermis con trauma previo).
- **Foliculitis:** se localiza en folículos pilosos y puede manifestarse a cualquier edad localizándose más frecuentemente en cuero cabelludo y cara.
- **Forunculosis:** sería una extensión de la anterior, con nódulos que acumulan tejido necrótico.
- **Ántrax:** se produce cuando los forúnculos alcanzan el tejido subcutáneo y puede tener repercusión sistémica.
- **Celulitis:** afectación primaria del tejido subcutáneo que puede llegar a alcanzar a la fascia superficial y la grasa subcutánea. El cuadro más agresivo sería la erisipela de evolución más tórpida pudiendo producir fascitis necrosante.
- **Mastitis:** no siempre asociada a infección bacteriana. Los conductos galactóforos pueden abscesificarse.
- **Infecciones del lecho quirúrgico:** han pasado de ser causadas por bacilos Gram negativo en la década de los 80 a tener como primera causa a *S.aureus* en el 2000, habiendo aumentado la proporción de infecciones por SARM que se asocian a peor evolución y mayores tasas de mortalidad<sup>3</sup>.

- **Infecciones invasivas y otras:**

- **Bacteriemia:** *S.aureus* es uno de los principales patógenos implicados en bacteriemias tanto nosocomiales como adquiridas en la comunidad. En la tercera parte de los casos, el foco inicial no llega a identificarse, pudiendo ser complicación de una infección primaria de piel y partes blandas de aspecto inocuo. La mortalidad asociada, se sitúa entre el 20-30%<sup>4</sup>.
- **Endocarditis:** constituye un proceso grave con una tasa de mortalidad del 34%<sup>5</sup>. Puede comenzar con sintomatología inespecífica lo que podría originar un retardo diagnóstico en el caso de una bacteriemia adquirida en la comunidad e incrementar la aparición de complicaciones derivadas del embolismo.

Como factores de riesgo además de anomalías cardíacas previas, estarían las válvulas cardíacas protésicas<sup>6</sup>, la infección de catéter intravascular y la adicción a drogas por vía parenteral.

- **Neumonía y empiema:** Se producen bien por diseminación hematógena o por aspiración. En las nosocomiales se asocian a ventilación mecánica. Numerosos casos de neumonía intrahospitalaria están producidos por SARM, pudiendo tener una evolución tórpida con necrosis y shock séptico.
- **Infección osteoarticular:** *S.aureus* es el microorganismo patógeno más habitual, pudiendo causar Osteomielitis (su origen puede ser la vía hematógena o la contigüidad de un foco de infección. En adultos la localización suele ser vertebral y en niños afecta más a metáfisis de huesos largos al tratarse de una zona más vascularizada), artritis

séptica e infección de prótesis articulares , con una tasa de siembra via hemática que se encuentra entre el 34%-41%<sup>7</sup>.

- **Síndrome del shock tóxico estafilocócico:** Puede aparecer como complicación de alguna de las infecciones mencionadas, desencadenado por cepas de *S.aureus* productoras de la toxina TSST-1. La sintomatología puede ir desde fiebre, hipotensión y afectación dermatológica hasta un fallo multiorgánico con Coagulación Intravascular Diseminada en el caso de una púrpura fulminante.
- **Otras situaciones:**
  - **Bacteriuria:** aunque la mayoría de casos suelen ser asintomáticos, en un tercio de pacientes existe sintomatología , la mayoría de las veces asociada a procedimientos invasivos como sondaje, cirugía o en el caso de pacientes institucionalizados<sup>8</sup>.

### Mecanismos de resistencia antibiótica

*S.aureus* ha sido capaz de desarrollar múltiples mecanismos de resistencia, habilidad que ya puso de manifiesto sólo un año después de que la penicilina se introdujera en la práctica médica<sup>9</sup>. En el caso de la meticilina, se comunica el primer caso intrahospitalario de resistencia a este antibiótico al año de su uso en clínica. Se le denominó *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (SARM). La resistencia está regulada por el gen *mecA* que codifica una proteína fijadora de penicilina (PBP) con baja afinidad por los  $\beta$ -lactámicos<sup>10</sup>.

### Resistencia a $\beta$ -lactámicos

A este grupo antibiótico pertenecen las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos. Estos fármacos bloquean la actividad transpeptidasa de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP) (Penicillin Binding Protein). Como la transpeptidasa está implicada en la síntesis de la pared bacteriana, la síntesis de peptidoglucano va a disminuir, consiguiéndose un efecto bactericida por efecto osmótico o por digestión de enzimas autolíticos.

*S.aureus* puede anular estos efectos de dos maneras:

- **Modificando las PBP:** *S.aureus* tiene cuatro PBPs que se ven inhibidas por estos antibióticos. En el caso del SARM, lo que se produce es una PBP con baja afinidad por este grupo antibiótico: la PBP2a, con lo que la síntesis de la pared bacteriana no se va a ver afectada.  
  
La expresión de la proteína PBP2a está codificada por el gen *mecA* que se encuentra integrado en el *Staphylococcal cassette chromosome* (SCC) del cromosoma de *S. aureus*. A su vez, la expresión de este gen viene regulada por otros dos genes: *mecI* y *mecR1*. Para que *mecA* se transcriba, debe unirse el  $\beta$ -lactámico al dominio receptor que codifica *mecR1*, liberándose una metaloproteasa que escinde al represor *mecI* con lo que finalmente se transcribe el gen *mecA* y se produce la síntesis de PBP2a<sup>11</sup>.
- **Produciendo  $\beta$ -lactamasas:** estas enzimas poseen actividad hidrolítica sobre el anillo  $\beta$ -lactámico. Pueden ser inhibidas de manera irreversible por ácido clavulánico, tazobactán y sulbactán.

### Resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas

Comparten grupo, pese a ser diferentes químicamente, ya que presentan el mismo mecanismo de acción y de desarrollo de resistencias al interferir con la unidad 50S ribosomal, lo que se traduce en una inhibición protéica. Esta resistencia puede darse por:

- Modificación de la diana (que sería el ARN ribosomal 23S) por la acción de N-metiltransferasas codificadas por los genes *erm* y que confiere resistencia cruzada a los tres miembros del grupo. La diana también puede modificarse por mutaciones en ese ARNr 23S y las proteínas ribosomales.
- Expulsión activa del antibiótico por bombas de eflujo codificadas por los genes *msr*, *mef*, *erp*, *vga* e *isa*, de origen plasmídico. En el caso de *S.aureus*, el gen más común es el *msrA*.
- Inactivación enzimática del antibiótico mediada por enzimas como lincosamida-nucleotidiltransferasas codificadas por los genes *inu*, *vat*, *vgb* y *mph*. Para *S.aureus*, la enzima implicada en la resistencia es una fosfotransferasa<sup>12</sup>.

### Resistencia a tetraciclinas

Son antibióticos bacteriostáticos que inhiben de manera reversible la síntesis de proteínas al impedir la unión del aminoacil-tRNA al sitio A del ribosoma bacteriano uniéndose directamente a la proteína S7 de la subunidad 30S.

La resistencia la confieren los genes *tet* (Tetraciclina) y *otr* (Oxitetraciclina) y viene dada por tres mecanismos:

- Eflujo activo
- Protección ribosomal
- Inactivación enzimática

En el caso de *S. aureus*, el plásmido pT181 es el prototipo de plásmido *tet* (K).

Los aislados de SARM-AG del CC398 presentan el gen *tetM* de manera característica, gen que no es habitual en los aislados de origen humano. También pueden presentar aunque no tan frecuentemente el gen *tetK*.

El gen ***tetM*** codifica una proteína de protección ribosomal que produce una afinidad reducida de éstos por la tetraciclina en presencia de GTP.

### Resistencia a aminoglucósidos

Son antibióticos bactericidas que se unen en el interior de la bacteria a proteínas de la subunidad 30S ribosomal originando un cambio en la estructura tridimensional del ribosoma que provocará un cambio en el marco de lectura y una traslocación del ARNm que va a producir proteínas anómalas, afuncionantes.

La resistencia puede producirse por:

- Mutación de genes de proteínas ribosomales que alteran el sitio diana.
- Reducción de la concentración intracelular bien por disminución de captación o por aumento de eflujo.
- Inactivación mediada por enzimas modificantes de aminoglucósidos.

En *S. aureus* el gen principalmente involucrado es el *aac* (6')-le-aph (2')-la, que confiere resistencia a gentamicina, tobramicina y kanamicina.

#### Resistencia a quinolonas

Su mecanismo de acción se basa en la inactivación enzimática de la ADN-girasa cromosómica y la ADN topoisomerasa IV con lo que no se va a llevar a cabo la replicación del ADN y, por tanto, la multiplicación bacteriana.

*S. aureus* desarrolla mutaciones en dos subunidades de las enzimas diana anteriores<sup>13</sup>.

#### Resistencia a Acido fusídico

Es un fármaco bacteriostático que se une al factor de elongación G (FE-G) lo que impedirá la síntesis proteica al no poderse liberar el ribosoma.

La resistencia se debe a mutaciones en el gen *fusA* que es el que codifica el FE-G<sup>14</sup>.

#### Resistencia a mupirocina

Es un antibiótico tópico de elección en la erradicación de portadores nasales de SARM.

Es un análogo estructural de la isoleucina y produce una inactivación competitiva de la isoleucil-ARNt sintetasa con lo que el aminoácido no va a poder incorporarse a la cadena peptídica.

Se producen dos tipos de resistencia:

- De bajo nivel (CMI=8-256 µg/ml) por mutaciones en el gen *ileS* que codifica la enzima isoleucil-ARNt sintetasa.
- De alto nivel (CMI>256 µg/ml) por la adquisición de genes de resistencia plasmídicos como *mupA* que codifica una isoleucil-ARNt sintetasa que carece de afinidad por la mupirocina.

Este gen se encuentra asociado también a resistencia a macrólidos, tetraciclina, trimetoprim y gentamicina ya que es transmitido por los mismos plásmidos<sup>15</sup>.

#### SARM, patogénesis y epidemiología

El genoma de *S. aureus* evoluciona de manera constante ya que además de los genes básicos (que conforman el 97% de su dotación genética) y que están presentes en todas las cepas, tiene unos 700 genes distribuidos de manera no uniforme (genes de núcleo variable o genes NV) cuyo patrón de distribución va a definir los diferentes linajes de la bacteria. Además, posee unos Elementos Genéticos Móviles (EGMs) cuyo ADN codifica para funciones de movilización, pudiendo facilitar la transferencia y recombinación de material genético.

Por tanto, no se pueden diferenciar en base a sus características genéticas, pero sí agruparlos por sus características moleculares y sus patrones de diseminación.

#### SARM asociado al hospital (SARM-AH)

La primera vez que se describe la presencia de SARM a nivel hospitalario es en Inglaterra<sup>16</sup> pasando a denominarse SARM asociado a hospital (SARM-AH) o de origen nosocomial. Su presencia ha ido creciendo a lo largo de los años constituyendo un problema de primer orden a nivel asistencial. Este progresivo aumento queda reflejado en el Estudio de Prevalencia de Infecciones Nosocomiales en España (EPINE) donde se refleja que el porcentaje de cepas de SARM sobre el total de *S. aureus* ha ido aumentando desde el 5% en 1990 hasta el 51% en el año

2009. A partir de ese año, las cifras han ido disminuyendo, quizá como consecuencia de la implementación de medidas tendentes a mejorar la prevención y el uso racional de antibióticos. Los datos del año 2016 reflejan un porcentaje de SARM del 38% sobre el total<sup>17</sup>.

#### SARM asociado a la comunidad (SARM-AC)

En el año 1993, fue descrita en pacientes aborígenes de Australia Occidental una nueva cepa de SARM que no estaba relacionada con las infecciones hospitalarias y que pasó a denominarse SARM adquirido en la comunidad (SARM-AC)<sup>18</sup>. Estas cepas aparecían en pacientes sin factores de riesgo clásicos y eran más agresivas que las de SARM-AH debido a la presencia de factores de virulencia como la toxina de Panton-Valentine (LPV)<sup>19</sup>.

Los principales grupos de riesgo entre la población serían aquellos que facilitasen la posibilidad de infección cruzada (niños, soldados, reclusos, etc.)

#### SARM asociado a ganado (SARM-AG)

En el caso de SARM asociado a ganado (SARM-AG), la primera vez que se menciona es en relación con un caso de mastitis bovina<sup>20</sup> que se creyó que tenía origen humano. Es en el año 2005 en Francia, cuando por primera vez se refleja la existencia de un nuevo clon de SARM en una granja de cerdos<sup>21</sup>. La línea genética que más prevalece es la del complejo clonal 398 (CC398).

También se describen en Alemania y Holanda en ese mismo año 2005 casos de patología en humanos, generalmente granjeros o pacientes relacionados profesionalmente con ganado porcino<sup>22</sup>.

En España, el primer caso publicado de SARM-AG del CC398 es el de una niña de 12 años con lesiones dermatológicas en cara y cuyos padres trabajaban en una granja de cerdos<sup>23</sup>.

De los tres tipos de SARM descritos, el SARM asociado a ganado no se disemina de manera uniforme, sino que parece aumentar en las zonas en las que existe una mayor densidad de ganado porcino<sup>24</sup> tanto si se da un contacto directo con el animal<sup>25</sup> como si se habita en un lugar cercano a granjas<sup>26</sup>.

Además, en estudios llevados a cabo en granjas de porcino, se ha demostrado asociación entre muestras provenientes de animales y muestras ambientales, lo que podría indicar que existe la posibilidad de que el SARM CC398 se propague por vía aérea entre los animales de la granja<sup>27</sup>.

Dada la ausencia de clínica específica en los animales colonizados por SARM, éstos no pueden ser identificados y separados de otros animales en los mataderos para evitar la contaminación cruzada, y dada la alta prevalencia de SARM en granjas de cría de cerdos, podría convertirse en un preocupante problema de salud pública por la facilidad para introducirse y transmitirse en la cadena alimentaria humana vía manipulación y/o consumo de carne y productos cárnicos derivados del cerdo.

Las nuevas tecnologías han permitido poner de manifiesto que SARM CC398 ha evolucionado desde cepas humanas de SARM que portaban el bacteriófago  $\phi$ Saint3. Una vez que se adaptó al ganado, este fago desapareció y se adquirieron las resistencias a tetraciclina y meticilina.

## JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo se va a centrar en SARM asociado a ganado porcino debido a las particulares características de nuestra Comunidad Autónoma. Según la última Encuesta Ganadera de mayo de 2018 publicada por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Aragón ha pasado a ser la comunidad líder en el sector porcino en España (7 885 943 de cerdos) por delante de Cataluña (7 731 138), que encabezaba tradicionalmente este sector.

Según cifras del Departamento de Desarrollo Rural y Sostenibilidad del Gobierno de Aragón, hay censadas en el año 2018, 3900 explotaciones de porcino que generan 11 090 puestos de trabajo directos. Esta actividad representa el 3,5% del PIB aragonés. El sector ha crecido exponencialmente en los últimos años. En el año 1983, representaba el 11% de la cabaña estatal, mientras que en el año 2018 la cifra se sitúa en el 25%.

España se sitúa como el cuarto mayor productor mundial de carne de porcino (3,75% de la producción mundial) por detrás de China, EEUU y Alemania. A nivel europeo, España se sitúa en segunda posición con una producción del 17,5% del total de la UE, según datos de 2018 de la Asociación Nacional de Industrias de la carne de España.

Este dato hace suponer una mayor presencia de estos clones en nuestra área sanitaria, incluyendo pacientes hospitalizados. Los pacientes podrán ser portadores o estar infectados con SARM CC 398, y es importante conocer los síndromes y rasgos con los que se presentan. Además, las características clínicas de estos pacientes no son las que se esperaría encontrar en una colonización o infección por SARM de origen nosocomial, sino que se aproximarían más a las de SARM adquirido en la comunidad<sup>28</sup>.

El esclarecimiento del riesgo por ingestión y la naturaleza de ese riesgo a lo largo de la cadena alimentaria, supondría un punto de apoyo para la toma de decisiones en Salud Pública.

Considerando que SARM es un patógeno de primera magnitud y que es uno de los principales microorganismos multirresistentes objeto de vigilancia tanto en Medicina humana como en Veterinaria, todo lo que redunde en un mayor conocimiento acerca de sus características clínicas y epidemiológicas, puede contribuir a una más fundamentada toma de decisiones en Salud Pública.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio transversal de prevalencia de los aislados clínicos y epidemiológicos de SARM tomando como punto de partida la base de datos de pacientes ingresados o estudiados en el Hospital Royo Villanova de Zaragoza durante el periodo del 1 de enero de 2016 al 31 de diciembre de 2018.

### Base de datos

Se seleccionaron los pacientes que habían presentado un cultivo positivo a *Staphylococcus aureus* Sensible a Meticilina (SASM) y *Staphylococcus aureus* Resistente a Meticilina (SARM).

La base de datos fue depurada usando códigos que sustituyeron todos los datos que pudieran identificar al paciente (nº de Historia Clínica, nombre y apellidos, etc.) de manera que resultase una base de datos segura en cuanto a protección de datos. Se guardó de manera separada de la base de datos que la originó.

Para evitar que de un mismo paciente se contabilizase más de un aislado de *S. aureus* por haberse recuperado en varias muestras, en una primera fase se consultaron las Historias clínicas para, una vez efectuada la revisión, anonimizarlas.

De esta manera, las variables que fueron objeto del tratamiento estadístico posterior, no podrían conducir a una posible identificación del paciente del que provienen, garantizando la permanencia en el anonimato de los mismos.

### Aislamiento e identificación de *S. aureus*.

En el Servicio de Microbiología y Parasitología del Hospital Royo Villanova, se comienza sembrando las muestras en distintos medios de cultivo tanto selectivos como no selectivos (MRSA Oxoid™).

Las placas se incuban en estufa a 37°C durante 24-48 horas y si se observa crecimiento de colonias convexas de 1 a 3 mm ( $\beta$ -hemolíticas en el caso de agar sangre o amarillo pajizo en el medio cromogénico), podemos confirmar género por medio de la prueba de la catalasa e identificar especie con paneles comercializados para estafilococos que tienen una batería de pruebas bioquímicas para identificar el microorganismo y una galería de distintos antibióticos a concentraciones crecientes que nos informarán de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) expresada en µg/ml para esos antibióticos (MicroScan Pos Combo Panel Type 37 de Beckman Coulter™). Estos paneles se procesan en Micro Scan Walk Away 96 plus (Beckman Coulter™).

Para identificación también se utiliza la técnica de espectrometría de masas MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization -Time of Flight). Su fundamento es que un láser vaporiza elementos no volátiles como puedan ser las proteínas que van a mostrar un patrón característico según el microorganismo del que se trate.

La confirmación de los aislados de SARM, además de por la susceptibilidad a oxacilina y cefoxitina, se puede determinar por una prueba de aglutinación de látex con anticuerpos monoclonales específicos anti-PBP2: *Penicillin Binding Protein 2a* (PBP2a SA Culture Colony test de Alere™).



## Tratamiento estadístico de los datos.

De la base de datos del Hospital Royo Villanova se seleccionaron todos los aislados de *S. aureus* tanto sensibles como resistentes a Meticilina. El fichero de Excel así obtenido se depuró en una primera fase agrupando todas las muestras que tuviera un mismo paciente al objeto de evitar duplicidades o multiplicidades. Separando posteriormente los aislados de SARM y de SASM se obtuvieron dos bases de datos que se fueron simplificando eliminando las variables que no iban a ser tenidas en cuenta, tales como grupos antibióticos que no se iban a analizar. De esta manera, los ficheros se fueron adaptando para poderlos exportar a SPSS, en concreto al programa IBM SPSS Statistics Versión 22, con el que se realizó todo el análisis estadístico.

Se definieron como variables:

- 1- Fecha: día, mes y año de la recepción de la muestra
- 2- Edad del paciente en años
- 3- Sexo: se categorizó como 1=hombre y 2= mujer
- 4- Número de cultivo de la muestra en el Laboratorio de Microbiología.
- 5- Tipo de muestra
- 6- Tipo de prueba
- 7- Origen del servicio peticionario
- 8- Sensibilidad a penicilina
- 9- Screening de cefoxitina
- 10- Sensibilidad a cloxacilina
- 11- Sensibilidad a tetraciclina
- 12- Sensibilidad a eritromicina
- 13- Sensibilidad a clindamicina
- 14- Sensibilidad a ciprofloxacino
- 15- Sensibilidad a levofloxacino
- 16- Sensibilidad a mupirocina
- 17- Sensibilidad a ácido fusídico
- 18- Sensibilidad a gentamicina
- 19- Sensibilidad a tobramicina

Todas las variables cualitativas se categorizaron.

- Sexo se recodificó como: **1= Hombre** y **2= Mujer**
- Tipo de muestra: **1= Piel y Partes Blandas**, **2= Sangre**, **3=Respiratorio**, **4= Líquidos estériles** (articular, pleural, ascítico...), **5= Orina**, **6= Epidemiología** y **7= Otras**
- Tipo de prueba: **1=Aerobio**, **2=Epidemiología**, **3=Coprocultivo**, **4=Cultivo**, **5=Hemocultivo**, **6=Urocultivo**.

- Origen: **1=** UCI, **2=** Urgencias, **3=** Cirugía General y Digestiva, **4=**Neumología, **5=** Medicina Interna, **6=** Traumatología y Ortopedia, hasta un total de 17 procedencias de distintos servicios hospitalarios.
- Todos los antibióticos se categorizaron con los valores: **1=** Resistente y **2=** Sensible. En el caso del Screening de Cefoxitina, la recodificación fue **1=** Positivo, **2=** Negativo.

Finalmente, con todas las variables y los datos introducidos, se empezó a realizar el análisis estadístico con el programa IBM SPSS Statistics 21.0 comenzando con estadística descriptiva. Las variables cuantitativas que tenían una distribución normal se describieron con medias como medidas centrales y desviaciones estándar (DE) como medidas de dispersión. Para las variables cualitativas se calcularon frecuencias absolutas y porcentajes.

Con la herramienta de SPSS que permite seleccionar casos, se separaron los casos resistentes a Tetraciclina tanto si se trataba de SASM como de SARM, con los que se creó una nueva base de datos.

Posteriormente se realizó inferencia estadística para comprobar significación, en el caso de variables categóricas mediante el test de Chi cuadrado de Pearson y en el caso de las variables continuas, por medio de las pruebas de t de Student o de U de Mann-Whitney según se asumiera o no normalidad que se comprobó previamente con la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

### Revisión bibliográfica.

Para evaluar el riesgo de contaminación alimentaria por SARM-AG para la salud humana y la importancia de la cadena alimentaria en la diseminación de resistencias antimicrobianas asociadas a cepas de SARM, se llevó a cabo una revisión bibliográfica buscando información en las principales bases de datos de que se dispone en Ciencias de la Salud como son Medline y Embase.

Se han introducido palabras clave con términos libres combinados con AND y OR y términos MeSH (términos de lenguaje controlado).

Así, en PubMed se introdujeron como términos de búsqueda *Staphylococcus aureus*, *S. aureus* "[MeSH Terms] OR ("MRSA"[All Fields] AND "livestock"[All Fields]) OR "worker"[All Fields] OR ("farmer"[All Fields] AND "pigs"[All Fields]), es decir, combinando términos libres y términos MeSH.

También se consultó SciELO (biblioteca virtual de ciencias de la salud de artículos escritos en español).

### Evaluación de riesgos de contaminación alimentaria

En una primera fase y a partir de la búsqueda bibliográfica realizada, se trató de identificar el peligro alimentario que pudiera suponer SARM-AG para la salud humana buscando evidencias de contaminación alimentaria, qué origen tenía, si proliferaba en los alimentos, si producía enterotoxinas, etc. para después caracterizar los riesgos tanto de intoxicación como de infección asociados al consumo de alimentos potencialmente contaminados.

Se analizaron los artículos revisados buscando establecer el riesgo real alimentario.

Finalmente, la búsqueda se dirigió a evaluar, considerando lo publicado hasta la fecha de la revisión, si la cadena alimentaria era importante en la diseminación de resistencias antimicrobianas asociadas a cepas de SARM.

El presente Trabajo Fin de Máster ha obtenido el Dictamen Favorable del CEIC Aragón (CEICA), como consta en el Acta Nº 15/2019.

## OBJETIVOS

1. Evaluar si la presencia de SARM-AG porcino tiene importancia clínica y epidemiológica en medicina humana, mediante:
  - Valoración de la repercusión en clínica de las infecciones por SARM CC398.
  - Determinación de las diferencias clínicas y epidemiológicas entre SARM CC398 y SARM no CC398.
  - Estimación de si los clones de SARM-AG porcino se suman al porcentaje de SARM de otros orígenes (hospitalario y comunitario).
2. Evaluar el riesgo de la contaminación alimentaria por SARM-AG (SARM CC398) para la salud humana.
  - Identificación y caracterización del peligro alimentario.
  - Evaluación de la exposición a alimentos potencialmente contaminados.
  - Caracterización del riesgo real alimentario.
3. Evaluar la importancia de la cadena alimentaria en la diseminación de resistencias antimicrobianas asociadas a cepas de SARM.
  - Sector primario
  - Cadena de suministro

## RESULTADOS

El número total de aislados de *S. aureus* contabilizados en el Servicio de Microbiología del Hospital Royo Villanova de Zaragoza durante los años 2016, 2017, y 2018 fue de 968.

Los porcentajes obtenidos en cada uno de ellos se exponen en la Tabla 1.

AÑO	n	SASM	SARM
2016	317	190 (59,93%)	127 (40,06%)
2017	323	201 (62,2%)	122 (37,8%)
2018	328	196 (59,7%)	132 (40,2%)
<b>Total</b>	<b>968</b>	<b>587</b>	<b>381</b>

Tabla 1. total de aislados de *S. aureus*

Los porcentajes de SARM/*S. aureus* y de SARM Tet<sup>R</sup>/SARM obtenidos a lo largo de esos 3 años se reflejan en la tabla 2:

AÑO	SARM/ <i>S. aureus</i>	SARM Tet <sup>R</sup> /SARM
2016	40%	11,8%
2017	37,7%	12,3%
2018	40,2%	12,9%

Tabla 2. Porcentajes SARM/*S. aureus* y de SARM Tet<sup>R</sup>/SARM

Por sexos, durante el año 2016 el porcentaje de hombres en los que se aisló SASM fue de 66,8% y de mujeres el 33,2% y en el caso de SARM fueron 63% para hombres y 37% para mujeres. En lo que respecta al año 2017 para SASM fueron 66,2% en hombres y 33,8% en mujeres y para SARM, 55,7% en el caso de hombres y 44,3% en el de mujeres. El año 2018 arrojó un porcentaje de aislados de SASM en hombres de 62,8% y de 37,2% en mujeres y de SARM para hombres fue del 53,8% y para mujeres del 46,2%. (Tabla 3)

AÑO	SASM		SARM	
	HOMBRE	MUJER	HOMBRE	MUJER
2016	127 (66,8%)	63 (33,2%)	80 (63%)	47 (37%)
2017	133 (66,2%)	68 (33,8%)	68 (55,7%)	54 (44,3%)
2018	123(62,8%)	73 (37,2%)	71 (53,8%)	61 (46,2%)

Tabla 3. Distribución por sexos

La mediana de edades para SASM en el año 2016 fue de 61 años y para SARM de 78, en el año 2017 fue de 66 para SASM y de 80 para SARM y en el año 2018 de 70 para SASM y de 81 para SARM (Tabla 4).

AÑO	$\bar{x}$ / mediana edad	
	SASM	SARM
2016	58,77 / 61	75,16 / 78
2017	61,24 / 66	75,92 / 80
2018	63,47 / 70	77,54 / 81

Tabla 4. Medias y medianas

Por grupos etarios la distribución fue (Tabla 5):

	SASM			SARM		
	2016	2017	2018	2016	2017	2018
1-25	9,5%	11,9%	9,7%	-	0,8%	0,8%
26-50	21,1%	14,9%	12,2%	7,9%	4,1%	6,1%
51-65	24,2%	22,4%	19,9%	15,7%	12,3%	8,3%
66-75	20,0%	20,9%	22,4%	20,5%	21,3%	18,2%
76-85	17,4%	20,9%	25,5%	23,6%	33,6%	34,1%
86-100	7,9%	9,0%	10,2%	32,3%	27,9%	32,6%

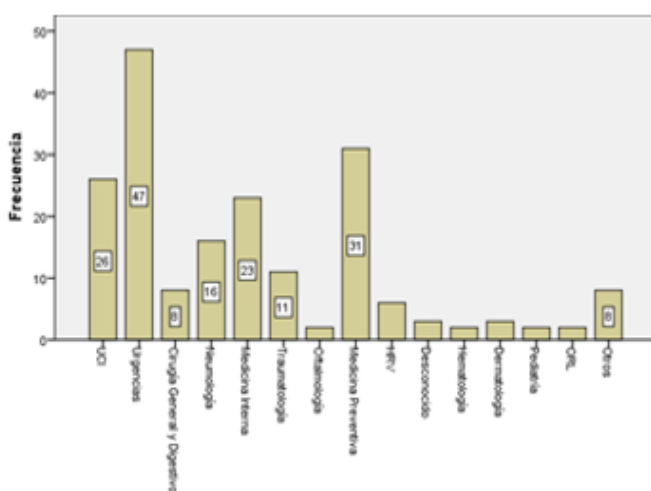
Tabla 5. Distribución de SASM y SARM por grupos etarios

Agrupando valores para <65 años y para >75 años, los porcentajes se situaron en (Tabla 6):

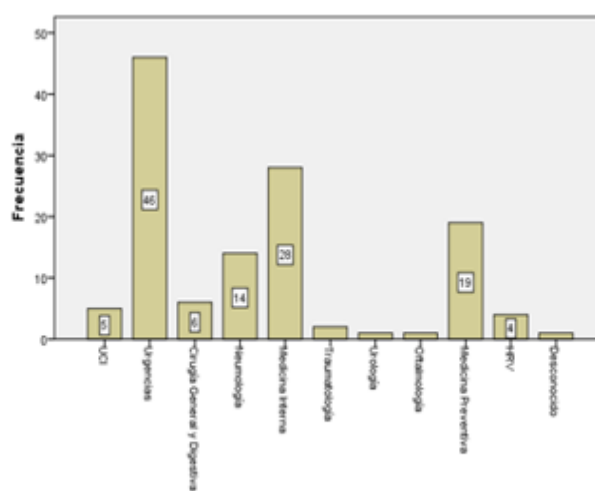
AÑO	% SARM		% SASM	
	<65 años	<65 años	>75 años	>75 años
2016	23,6%	54,7%	25,3%	55,9%
2017	17,2%	49,3%	29,9%	61,5%
2018	15,1%	41,8%	35,7%	66,6%

Tabla 6. Porcentajes para <65 y >75 años

La procedencia de las muestras según el servicio peticionario de origen para los aislados de SASM en el año 2016 se muestra en diagrama de barras, siendo el servicio de urgencias el mayoritario con un 24,7%. En el caso de SARM el año 2016 el servicio mayoritario es urgencias con un 36,2%

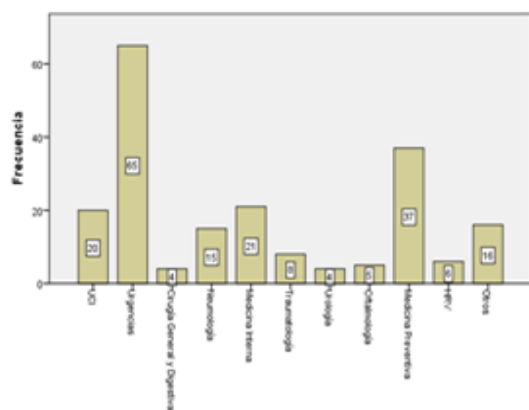


SASM 2016

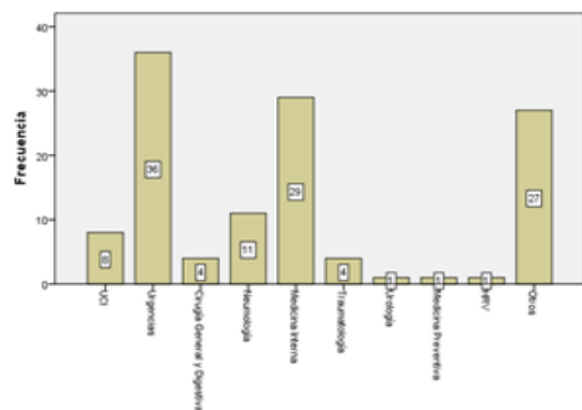


SARM 2016

Durante el año 2017 el 32,3% de las muestras de SASM tenían su origen en el Servicio de urgencias y el 29,5 de las muestras de SARM procedían de ese servicio.

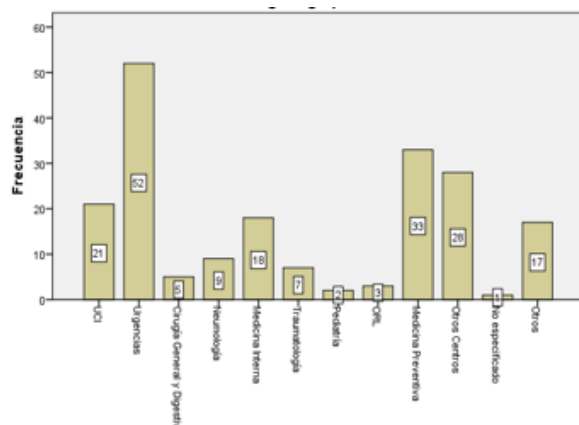


SASM 2017

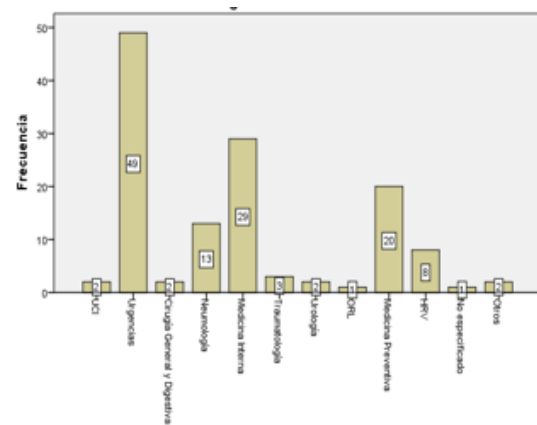


SARM 2017

El año 2018 para el caso de SASM la procedencia desde urgencias fue del 26,5% y para SARM, del 37,1%



SASM 2018



SARM 2018

En cuanto al tipo de muestra clínica donde más se aisló *S.aureus* (tanto SASM como SARM) fue la proveniente de Piel y Partes Blandas, seguidas por las muestras de Epidemiología y de Tracto Respiratorio (Tabla 7).

AÑO	SASM					
	PPB	Respiratorio	Epidemiología	Sangre	Orina	Otros
2016	34,2%	15,8%	33,2%	6,8%	5,3%	4,7%
2017	24,9%	12,4%	33,3%	12,9%	10,4%	6,1%
2018	34,2%	9,2%	33,7%	9,2%	6,6%	7,1%

AÑO	SARM					
	PPB	Respiratorio	Epidemiología	Sangre	Orina	Otros
2016	33,9%	21,3%	23,6%	7,9%	7,9%	5,4%
2017	41,8%	15,6%	22,1%	9,8%	7,4%	3,3%
2018	36,4%	21,2%	21,2%	11,4%	7,6%	2,3%

Tabla 7. Porcentajes por tipo de muestra

Las resistencias antibióticas se testaron para Aminoglucósidos, Quinolonas, Macrólidos y Lincosamidas, además de Penicilina, Mupirocina, Acido Fusídico y Tetraciclina.

SASM			
AÑO	Penicilina	A.Fusídico	Mupirocina
2016	90,1%	1,6%	9,5%
2017	86,6%	1,5%	11,4%
2018	83,1%	4,1%	11,7%

SARM			
AÑO	Penicilina	A.Fusídico	Mupirocina
2016	93,7%	3,9%	21,3%
2017	94,3%	4,9%	39,3%
2018	94,7%	9,1%	34,8%

SASM						
Aminoglucósidos			Quinolonas		Macrólidos y Lincosamidas	
AÑO	Gentamicina	Tobramicina	Ciprofloxacino	Levofloxacino	Eritromicina	Clindamicina
2016	4,7%	10%	10%	5,3%	23,7%	16,5%
2017	3%	8,5%	8%	7,5%	26,4%	20,4%
2018	3,6%	11,3%	17,3%	12,2%	31,1%	24,5%

SARM						
Aminoglucósidos			Quinolonas		Macrólidos y Lincosamidas	
AÑO	Gentamicina	Tobramicina	Ciprofloxacino	Levofloxacino	Eritromicina	Clindamicina
2016	20,5%	34,9%	89,8%%	85,8%	66,1%	21,6%
2017	28,7%	52,7%	90%	88,5%	68,7%	24,6%
2018	30,3%	48,9%	92,4%	90,8%	68,9%	25%

De estos tres grupos farmacológicos se obtuvieron perfiles de multi-resistencia, según mostrasen resistencia a ninguno, a 1, 2, 3, 4, 5 o a los 6 antibióticos que se testaron y los resultados para el año 2016 fueron:



		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	0	121	63,7	63,7	63,7	Válido	,00	3	2,4	2,4	2,4
	1	22	11,6	11,6	75,3		1,00	6	4,7	4,7	7,1
	2	36	18,9	18,9	94,2		2,00	30	23,6	23,6	30,7
	3	6	3,2	3,2	97,4		3,00	47	37,0	37,0	67,7
	4	4	2,1	2,1	99,5		4,00	18	14,2	14,2	81,9
	5	1	,5	,5	100,0		5,00	13	10,2	10,2	92,1
	6						6,00	10	7,9	7,9	100,0
	Total	190	100,0	100,0			Total	127	100,0	100,0	

SASM

SARM

Por lo que se refiere al año 2017 los resultados fueron:

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	0	126	62,7	62,7	62,7	Válido	0	3	2,5	2,5	2,5
	1	24	11,9	11,9	74,6		1	2	1,6	1,6	4,1
	2	38	18,9	18,9	93,5		2	16	13,1	13,1	17,2
	3	5	2,5	2,5	96,0		3	36	29,5	29,5	46,7
	4	7	3,5	3,5	99,5		4	23	18,9	18,9	65,6
	5	1	,5	,5	100,0		5	21	17,2	17,2	82,8
	6						6	21	17,2	17,2	100,0
	Total	201	100,0	100,0			Total	122	100,0	100,0	

SASM

SARM

Y para el año 2018:

Multirresistencia						multirresistencia					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado			Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	0	109	55,6	55,6	55,6	Válido	0	2	1,5	1,5	1,5
	1	21	10,7	10,7	66,3		1	3	2,3	2,3	3,8
	2	39	19,9	19,9	86,2		2	28	21,2	21,2	25,0
	3	12	6,1	6,1	92,3		3	41	31,1	31,1	56,1
	4	14	7,1	7,1	99,5		4	21	15,9	15,9	72,0
	5	1	,5	,5	100,0		5	20	15,2	15,2	87,1
	Total	196	100,0	100,0			6	17	12,9	12,9	100,0
							Total	132	100,0	100,0	

SASM

SARM

Los aislados de SARM que presentaban resistencia a tetraciclina fueron:

	TETRA R					
AÑO	n	% total	% Hombres	% Mujeres	$\bar{X}$ edad hombres	$\bar{X}$ edad mujeres
2016	15	11,8%	13,8% (11/80)	8,5% (4/47)	70,5	75,7
2017	15	12,3%	14,7% (10/68)	9,3% (5/54)	69,4	73,2
2018	17	12,9%	16,9% (12/71)	8,2% (5/61)	76,7	63,2

Los aislados de SASM resistentes a tetraciclina fueron:

AÑO	TETRA R					
	n	% total	% Hombres	% Mujeres	$\bar{X}$ edad hombres	$\bar{X}$ edad mujeres
2016	5	2,6%	2,4% (3/127)	3,2% (2/63)	66,3	58,5
2017	15	7,5%	8,2% (11/133)	5,9% (4/68)	62,6	59,2
2018	14	7,1%	8,1% (10/123)	5,5% (4/73)	68,7	56,7

Se realizó inferencia estadística para variables cualitativas por medio de la prueba de chi-cuadrado o test de Fisher. Se examinó la significación para sexo y origen por servicios de los pacientes con los resultados que se muestran en la tabla:

AÑO	Sexo vs Servicio de origen	
	SASM	SARM
2016	p=0,274	p=0,395
2017	p=0,178	p=0,037
2018	p=0,365	p=0,176

También para grupos etarios y multi-resistencia:

AÑO	Grupos etarios vs Multi-resistencia	
	SASM	SARM
2016	p=0,274	p=0,348
2017	p=0,383	p=0,473
2018	p=0,001	p=0,037

Para sexo y resistencia a tetraciclina:

AÑO	Sexo vs Resistencia a tetraciclina	
	SASM	SARM
2016	p=0,742	p=0,377
2017	p=0,524	p=0,363
2018	p=0,486	p=0,137

Para grupos etarios y resistencia a tetraciclina:

AÑO	Grupos etarios vs Resistencia a tetraciclina	
	SASM	SARM
2016	p=0,456	p=0,101
2017	p=0,525	p=0,387
2018	p=0,502	p=0,115

## DISCUSIÓN

En el presente trabajo se ha llevado a cabo un estudio de todos los aislados tanto clínicos como epidemiológicos de *S. aureus* en el Hospital Royo Villanova de Zaragoza durante los años 2016, 2017 y 2018.

La cifra de SARM en todos esos años es de 381 casos sobre los 968 aislados totales de *S. aureus* lo que supone una prevalencia de SARM del 39,3%, cifra en el límite alto de lo detectado en España según datos de ECDC en 2016 que la sitúan entre un 25 y un 50%<sup>29</sup>. El porcentaje es similar en los tres años oscilando entre un 37,8% y un 40,2%.

Por sexos, se aprecia un incremento en el número de mujeres en las que se aísla tanto SASM como SARM, más relevante en el caso de SARM donde se constata un aumento del 9% del año 2016 (37%) al 2018 (46%).

Las medias de edades evidencian diferencias de hasta 15 años para SASM y SARM, siendo los pacientes afectados por estos últimos más añosos, tal y como reflejan las cifras en progresivo aumento cada año. Los pacientes de mayor edad suelen ser tributarios de más atención médica, incluidos ingresos hospitalarios, que la población más joven por lo que la posibilidad de entrar en contacto con SARM es superior y, además, la posibilidad de pacientes institucionalizados también va a darse más habitualmente al aumentar la franja de edad.

Esta circunstancia queda también constatada cuando se distribuyen los pacientes por grupos etarios. En el caso de SASM el grupo de 1-25 años y las edades medias son más numerosos a lo largo de los tres años en estudio, mientras que para SARM, los porcentajes más altos se sitúan en las franjas de edades de 76-85 y de 86-100 años.

El porcentaje de SARM en mayores de 75 años ha ido aumentando progresivamente, pasando del 55,9% en 2016 a 66,6% en 2018.

La procedencia de las muestras según el servicio que origina la petición es uniforme a lo largo de los años estudiados, siendo Urgencias el servicio peticionario mayoritario, dato que se vería sustentado en la alta actividad asistencial que se desarrolla en esa área y en la labor educacional y de colaboración que se viene adoptando desde la implementación del código SEPSIS.

En cuanto al tipo de muestra clínica tanto para SASM como para SARM y en los tres años objeto del estudio, el porcentaje mayoritario corresponde a las que provienen de Piel y Partes Blandas seguidas de las de origen respiratorio, hallazgo que concuerda con las características de colonización y transmisibilidad de *S. aureus*<sup>30</sup> y particularmente de las cepas de SARM del CC398 cuya transmisión habitual se produce por contacto directo o por vía aérea.

Las muestras de carácter epidemiológico suponen un tercio del total en cada uno de los años revisados.

*S. aureus* posee una gran variedad de mecanismos de resistencia que ha ido multiplicando en el tiempo a medida que se han ido introduciendo nuevos antibióticos en el arsenal terapéutico.

El uso indiscriminado de la penicilina, condujo a la aparición de las primeras resistencias, considerándose en la actualidad que entre el 90 y el 95% de las cepas son resistentes<sup>31</sup>. En nuestro estudio, en el caso de SASM, las resistencias están en torno al 85% de manera uniforme

en los tres años y para el caso de SARM, las cifras de resistencia se elevan hasta un 94% también de manera similar para esos periodos de tiempo analizados.

Los datos de resistencia a otros grupos de antibióticos testados, ponen de manifiesto las diferencias existentes entre los aislados de *S. aureus* según pertenezcan al grupo sensible o resistente a meticilina.

La resistencia a aminoglucósidos es habitual en especies de estafilococos<sup>32</sup> y en nuestro estudio se observa un mayor porcentaje de resistencia a tobramicina que a gentamicina, con un porcentaje máximo del 11% de resistencia a tobramicina en el año 2018 para los SASM. La tendencia de mayor resistencia a tobramicina se da también en los SARM, pero el porcentaje llega al 52% de resistencia a tobramicina en el año 2017.

En el caso del grupo de macrólidos y lincosamidas, se observa la misma tendencia que para aminoglucósidos, con porcentajes inferiores para SASM tanto para eritromicina como clindamicina, porcentajes de resistencia que llegan a duplicarse en el caso de los SARM para la eritromicina, tendencia que sigue lo descrito en otros trabajos<sup>33</sup>.

Las resistencias a quinolonas se hacen especialmente evidentes para los aislados de SARM tanto para ciprofloxacino como para levofloxacino, alcanzando porcentajes en torno al 90% de manera similar a lo largo de los tres años examinados, siendo en el caso de los SASM los resultados de resistencias alrededor del 10%.

En menor medida se presentan también resistencias a ácido fusídico y mupirocina, con la misma tendencia que el resto de grupos antibióticos en cuanto a porcentajes, más elevados para el caso de SARM. Se observa un incremento del porcentaje de resistencia a mupirocina a lo largo de los tres años, lo que iría ligado al aumento del número de descolonizaciones nasales que requiere el incremento de casos de SARM, actuación necesaria por otra parte, ya que se ha demostrado que reducen el número de infecciones<sup>30</sup>.

Estos datos reflejan conjuntamente un perfil que en el caso de los SARM arroja porcentajes del 8% en 2016, 17% en 2017 y 13% en 2018 de resistencia a los 6 antibióticos testados, esto es, ciprofloxacino, levofloxacino, eritromicina, clindamicina, gentamicina y tobramicina, lo que constituye un fenotipo de multi-resistencia (resistencia al menos a tres familias de antibióticos) que ya describen estudios previos<sup>34</sup>.

La consecuencia inmediata es la limitación y la restricción del arsenal terapéutico en el tratamiento de infecciones.

En cuanto a la resistencia a tetraciclina, se considera un buen marcador fenotípico de SARM-AG<sup>35</sup> ya que el uso intensivo de este antibiótico en la producción animal de alimentos es probable que influya en la selección de cepas<sup>36</sup>. Además, según datos publicados en 2017 por la *European Medicines Agency*, la tetraciclina es uno de los antibióticos que más se utilizan en Europa.

En nuestro estudio, la resistencia a tetraciclina en los aislados de SARM es uniforme a lo largo de los tres años objeto de revisión, situándose en porcentajes del 12%. El porcentaje de hombres es mayor que el de mujeres en todos los años y la media de edades se sitúa entre los 70 y los 75 años.

En el caso de SASM, la resistencia a tetraciclina se da en porcentajes más bajos, en torno al 7% siendo también más habitual en hombres. La media de edades es más baja, de manera más sustancial en el grupo de las mujeres y en los tres años del estudio, con cifras de 56 a 59 años.

En cuanto al estudio de significación estadística realizado para variables cualitativas y considerando tal significación cuando el valor de p fue menor a 0,05, se encuentra asociación estadísticamente significativa para las variables Sexo y el Servicio del que provienen los pacientes en el caso de las mujeres a las que se aísla SARM ( $p=0,037$ ).

También se encuentra dicha asociación durante el año 2018 tanto para aislados tanto de SARM como de SASM en el caso de los grupos etarios y los patrones de multi-resistencia (con  $p=0.037$  y  $p=0,001$  respectivamente) lo que induce a pensar que la pertenencia a un grupo determinado de edad influye a la hora de desarrollar mecanismos de resistencia farmacológica y resulta congruente con el hecho de que el porcentaje de SARM en mayores de 75 años ha ido aumentando progresivamente, como ya se ha comentado, a la vez que va aumentando la tasa de resistencias farmacológicas en la población.

Los resultados obtenidos para los porcentajes de SARM /*S.aureus* y de SARM/Tet<sup>R</sup> son coincidentes con lo publicado hasta ahora para el Hospital Royo Villanova. Según el último estudio llevado a cabo por Ceballos y cols publicado en 2019<sup>37</sup> y que recoge las muestras recuperadas durante el año 2016 en ese mismo hospital, los porcentajes que obtienen son del 42,2% para SARM/*S. aureus* y del 9,2% para SARM/Tet<sup>R</sup>. En nuestro caso y durante ese mismo periodo de tiempo los resultados fueron del 40% y del 11,8% respectivamente, observándose una asociación estadísticamente significativa entre SARM /*S.aureus* y la densidad de cerdos en esa zona geográfica (142,66 cerdos /Km<sup>2</sup>) con una  $p<0,05$  y no así con la densidad de población (55,20 habitantes/Km<sup>2</sup>) con una  $p>0.05$ .

Evaluación del riesgo de la contaminación alimentaria por SARM-AG (SARM CC398) para la salud humana

#### *Identificación del peligro alimentario.*

El consumo de alimentos contaminados o el contacto con animales infectados por *S.aureus* puede conllevar situaciones de intoxicación o infección de carácter zoonótico.

En Europa el informe publicado por la European Food Safety Authority en 2015 señala que las intoxicaciones causadas por las enterotoxinas estafilocócicas, son responsables del 7,4% de todos los brotes informados por la Unión Europea.

La detección del microorganismo en alimentos de origen animal supone un riesgo para la inocuidad alimentaria además de contribuir a la diseminación de cepas portadoras de genes de resistencia antibiótica actuando como verdaderos reservorios genéticos de resistencias.

La emergencia de la presencia de SARM en animales ha provocado un gran interés por la implicación que pudiera tener en los alimentos.

#### *Características del agente de peligro*

El consumo de alimentos contaminados con *S. aureus* puede causar procesos gastrointestinales mediados por toxinas con manifestaciones clínicas como gastroenteritis, náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal con un periodo de incubación de 1-6 h. En líneas generales, suelen ser procesos autolimitados.

Estas intoxicaciones estafilocócicas son el resultado de la acción de enterotoxinas estafilocócicas producidas por cepas enterotoxigénicas de *S. aureus*. La producción de toxina en los alimentos es óptima a 34-40°C, en condiciones de pH de 7-8, de aw de 0,99, de concentración de sal inferior al 4% y en presencia de oxígeno. No hay producción de toxinas por debajo de 10°C o en condiciones de pH inferior a 5, o de aw de 0,86, o de concentración de sal de más del 10 %, o de concentraciones de oxígeno muy bajas.

Se han identificado hasta la fecha 23 enterotoxinas diferentes, siendo la principal responsable la enterotoxina SEA<sup>38</sup>. Son toxinas termoestables y no se ven afectadas por pH bajos ni por enzimas proteolíticos por lo que se reduce la eficacia de los procedimientos industriales que utilizan la acidificación o tratamientos térmicos aplicados habitualmente para minimizar el peligro microbiológico en los alimentos y, además, pueden resistir en el tracto gastrointestinal en condiciones en las que la propia bacteria no lo haría<sup>39</sup>.

El riesgo de intoxicación se relaciona con recuentos microbianos en los alimentos entre 100 000-1 000 000 UFC/g<sup>40</sup>.

Actualmente preocupan las cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM) como causa importante de infección hospitalaria en muchos países europeos.

#### *Prevalencia en ganado*

La prevalencia real de cepas de SARM CC398 en ganado es difícil de determinar. En España la cifra se sitúa en el 46%<sup>41</sup>. Estudios en Países Bajos la sitúan entre un 40% y un 80% de las granjas de cerdos en función del tamaño de la granja evaluada<sup>42</sup>. En Alemania, del 52% en las explotaciones de engorde<sup>43</sup>.

Además del tamaño de la granja, la prevalencia de SARM-AG también podría estar influenciada por el sistema de producción (intensivo vs alternativo), por el uso de desinfectantes y también por el uso de preparados derivados de zinc como tratamiento preventivo de la diarrea en lechones<sup>44</sup>.

Los modelos de producción intensivos proporcionan las condiciones óptimas para la introducción y la transmisión de SARM. Un tamaño de granjas con un número de cerdos superior a los 500, se considera un factor de riesgo en Alemania<sup>43</sup>.

Se ha sugerido que incluso los alimentos para animales podrían ser una potencial fuente de contaminación por SARM<sup>45</sup>.

#### *Prevalencia en trabajadores*

Diversos estudios relacionan la prevalencia de colonización nasal por SARM-AG en trabajadores de granjas de cerdos. En España dicha prevalencia oscila entre el 15% obtenido en un estudio llevado a cabo en Tenerife<sup>46</sup> y el 58% en Cataluña<sup>41</sup>.

En Países Bajos oscila entre el 20%-60% siendo el estrecho contacto con los animales el mayor riesgo para su adquisición<sup>47</sup>.

En Alemania las cifras de portadores nasales están en el 25%, considerando que la exposición ocupacional estaría influenciada por la duración y la intensidad de ese contacto con los animales<sup>48</sup>.

En el caso de trabajadores en mataderos, se refieren cifras de colonización nasal del 2%-6% en Países Bajos<sup>49</sup> y del 8% en España<sup>46</sup>.

En veterinarios, las cifras en Países Bajos son del 43%<sup>50</sup> y del 45% en Alemania donde, en ese mismo estudio, el 9% de sus familiares también presentaron colonización por SARM-AG<sup>51</sup>.

Asimismo, se ha observado que la colonización nasal es más frecuente en personas que viven en las proximidades de granjas<sup>52</sup>.

Los trabajadores en contacto con cerdos tendrían una mayor carga bacteriana de SARM-AG pudiendo actuar como reservorios con las implicaciones clínicas y epidemiológicas que eso conlleva<sup>53</sup>. Tienen un Odds Ratio (OR) de 23,6 veces más probabilidad de ser portador de SARM que si no tienen contacto además cada hora por día que se aumenta el contacto, incrementa el riesgo 1,4 veces.

Las terapias rutinarias de descolonización en estos trabajadores no se recomiendan debido a la alta probabilidad de recolonización si persiste el contacto con los animales.

### Caracterización del peligro

#### *Evidencia de riesgo de intoxicación alimentaria*

Numerosos estudios demuestran que la mayoría de los brotes de intoxicación alimentaria estafilocócica se originan por una indebida manipulación o cocinado de los alimentos o bien, por un incorrecto almacenamiento bajo condiciones que permiten el crecimiento de *S. aureus* y la producción de enterotoxinas.

La principal fuente de contaminación en los alimentos son los manipuladores portadores nasales o que portan el microorganismo en sus manos<sup>54</sup>, aunque los utensilios y las superficies de manipulación pueden ser también importantes, unido a unas prácticas deficientes de limpieza y desinfección. Las cifras que se estiman de prevalencia de *S. aureus* en las manos de manipuladores de alimentos son muy variables: 11,1% en Portugal<sup>55</sup> hasta mayores del 50%<sup>56</sup>.

Aunque la prevalencia de SARM en los alimentos crudos es baja, no puede descartarse su transmisión a través de la cadena alimentaria, habiéndose informado de brotes de origen alimentario causados por SARM no CC398. Uno de ellos causado por la enterotoxina C en Tennessee con tres personas afectadas<sup>57</sup> y otro en un hospital en Alemania que afectó a 27 pacientes y 14 trabajadores sanitarios; en este caso se detectó la presencia de SARM en los alimentos ingeridos identificándose como portador faríngeo un trabajador de las cocinas del hospital<sup>58</sup>. La identificación de cepas SARM, mediante la detección de la presencia del gen *mecA*, es importante no sólo en los alimentos, sino también en los manipuladores que contribuyen a la contaminación cruzada de los productos alimenticios.

Por otra parte, el papel de los alimentos como vehículo para la colonización o infección en humanos es considerado de nivel bajo por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

La verdadera incidencia de infecciones causadas por SARM-AG sólo puede ser estimativa. En dos de los principales países europeos productores de ganado porcino como son Dinamarca y Alemania, las cifras de incidencia de colonización asintomática es de 11,5 casos/100 000 habitantes y de 8,45/100 000 habitantes, de infección de 2,8/100 000 habitantes y 0,64/100 000 habitantes y de bacteriemia de 0,07/100 000 y 0,08/ 100 000 habitantes, respectivamente. Estos

datos indican una incidencia global baja de infecciones por SARM-AG baja en ambos países, <3 infecciones/100 000 habitantes/año, siendo más acusada en áreas con una mayor densidad de granjas<sup>30</sup>.

La proporción de infecciones severas causadas por SARM-AG es baja, estimándose entre el 0,8%-14%<sup>50</sup>. Como factor etiológico de enfermedades dermatológicas en granjeros, se estiman cifras del 3,2% en Alemania frente a un 7,9% en USA<sup>59</sup>. Si se amplía el espectro de infecciones, en Alemania al menos el 10% de infecciones esporádicas se consideran causadas por este clon.

Este bajo perfil infectivo de SARM-AG se debe a que posee un menor número de genes de virulencia comparado con otras cepas de SARM<sup>60</sup>.

### Evaluación de la exposición

#### *Prevalencia de SARM-AG en alimentos*

En general, se observan cifras bajas de prevalencia de SARM en alimentos de origen animal, 0,09% de muestras de leche en Italia<sup>61</sup>, lo que parece sugerir que el riesgo de intoxicación alimentaria es limitado.

En países como Dinamarca y Holanda donde la población se concentra en áreas urbanas, la gran mayoría de casos de infección-intoxicación por SARM-AG ocurre en áreas rurales donde se constata la mayor densidad de granjas de cerdos. La baja frecuencia de infecciones en áreas urbanas proporciona una evidencia indirecta de que los alimentos no son un importante factor de transmisión de SARM-AG<sup>62</sup>.

En España, el primer estudio sobre la presencia de la cepa ST398 en alimentos detecta el microorganismo en el 1,6% de las muestras de carne (cerdo, pollo, conejo, ternera y jabalí) analizadas<sup>52</sup>. Otro estudio en Canadá refleja también bajos niveles en diferentes tipos de derivados cárnicos listos para el consumo con un 37% de cepas por debajo del umbral de detección<sup>63</sup>, mientras que en Holanda solo se aisló el microorganismo utilizando medios de enriquecimiento<sup>64</sup>.

La identificación de SARM como contaminante es más habitual en alimentos ricos proteicos (carnes, mariscos, huevos), y su presencia está documentada con porcentajes que oscilan del 6,4% en Canadá<sup>63</sup> al ya referido 1,6% en España<sup>52</sup> pasando por el 3,8% en Italia<sup>65</sup>, el 2,5% en Países Bajos<sup>64</sup> o el 2,4% en Corea<sup>66</sup>.

La prevalencia de SARM en los alimentos varía dependiendo de la especie animal y del país de procedencia. Así, mientras que los derivados del cerdo parecen tener un alto índice de contaminación en USA y Canadá<sup>63</sup>, en Dinamarca y Países Bajos, la prevalencia más alta se encuentra en carne de pollos<sup>67</sup>. En general, los principales alimentos en los que se ha aislado SARM han sido en carnes frescas (cerdo, vacuno, bovino, pollos, patos y en una ocasión, conejo) y productos lácteos (leche y queso).

La carne fresca de cerdo puede contaminarse durante el procesado. Los datos de prevalencia en carne de cerdo en Países Bajos son del 10,7% cifra que desciende en productos listos para consumo al 2,8% en Alemania<sup>68</sup>. Cifras similares de contaminación se encuentran en USA y Canadá<sup>69</sup>.



La contaminación alimentaria a menudo es el resultado de unas deficientes medidas higiénicas en la cadena de producción desde la granja (animales infectados) hasta el consumo de los productos derivados.

Si se considera el transporte del ganado, los camioneros y el personal de los mataderos pueden servir como reservorios y vectores de transmisión. En USA encuentran porcentajes de colonización por SARM del 2,9% en la granja y del 11,3% en el matadero<sup>70</sup>. En Alemania, en un estudio experimental con 4 piaras de cerdos negativos a SARM en la granja, a los que se les hace una toma nasal al llegar al matadero, encuentran un porcentaje del 10,3% positivos a este microorganismo al llegar al matadero<sup>42</sup>.

Dado que SARM puede colonizar y no ofrecer sintomatología, sin un análisis microbiológico no es posible distinguir si una piara de cerdos es positiva o negativa al llegar al matadero.

Diferentes estudios avalan una notable reducción de SARM a lo largo de la cadena de producción. Porcentajes del 11,3 al 64,7% de cerdos con SARM a la llegada al matadero, se reducen a cifras del 2,8% al 3,8%, respectivamente, al final de la cadena de procesamiento del producto<sup>71</sup>, lo que indica que la adopción de medidas higiénicas puede jugar un papel fundamental.

No hay referencias científicas que relacionen las infecciones o colonizaciones por SARM con la manipulación de un alimento contaminado, por lo que el riesgo parece ser mucho más bajo que el que se deriva del contacto con animales vivos o seres humanos.

#### Evidencia del riesgo real alimentario

Aunque la colonización o infección por SARM por manipulación o consumo de alimentos contaminados pueda ser posible, la dosis infectiva no ha sido exactamente determinada. Existe una notable discrepancia entre la alta frecuencia de detección de SARM-AG y el bajo número de infecciones causado por estas cepas. La respuesta podría ser la pérdida de factores de virulencia clínicamente reseñables<sup>72</sup>. No obstante, el potencial patogénico de SARM-AG puede incrementarse mediante la adquisición de nuevos genes de virulencia por lo que la vigilancia debe ser continua.

Evaluación de la importancia de la cadena alimentaria en la diseminación de resistencias antimicrobianas asociadas a cepas de SARM.

El uso de sustancias antimicrobianas en animales o cultivos destinados a la producción de alimentos puede constituir un factor potencialmente importante de riesgo de selección y propagación a los seres humanos de microorganismos resistentes y de determinantes de antibiorresistencias a través del consumo de alimentos derivados de dichos animales o cultivos.

Por tanto, los microorganismos resistentes a los antimicrobianos susceptibles de ser transmitidos por los alimentos, constituyen un posible peligro microbiológico para la inocuidad de los mismos, y, por tanto, un riesgo para la salud pública.

Es frecuente la correlación entre un elevado número de genes codificantes para enterotoxinas y genes de multi-resistencia<sup>73</sup>.

El amplio fenotipo de resistencia antibiótica es característico del linaje genético de los SARM<sup>35</sup>.

Se ha observado correlación entre perfiles de resistencia antibiótica y las cepas de SARM aisladas en leche cruda procedente de vacas con mamitis en estudios en Portugal<sup>74</sup>, en derivados cárnicos de aves de corral en Dinamarca<sup>62</sup>, pero también se encuentran resistencias a fluoroquinolonas, aminoglucósidos y lincosamidas.

En África subsahariana diversos estudios advierten del aumento de transmisión de cepas de SARM multirresistentes (penicilina, tetraciclina y fosfomicina) provenientes de leche cruda y fermentada de camella y vaca que llegan a alcanzar recuentos de  $10^5$  UFC/ml en el punto de venta al consumidor<sup>75</sup>.

En China refieren la presencia de SARM CC389 en carnes de pollo y cerdo en niveles bajos en el punto de venta y dado que los alimentos se comercializan sin envasar tras su congelación, atribuyen la contaminación al contacto directo del comprador en el momento de la compra. Las cepas detectadas presentaban tanto genes codificantes de producción de enterotoxinas como de multi- resistencias (penicilina, tetraciclina, eritromicina y clindamicina<sup>76</sup>).

En India se detecta una prevalencia en cerdos del 54.84% de cepas de SARM multirresistentes (con una media de resistencia a 3 antibióticos)<sup>77</sup>. La contaminación en este tipo de carne de cerdo fue mayor en los puntos finales de venta que en los mataderos o plantas de procesamiento, lo que indica la necesidad de llevar a cabo correctos procedimientos higiénicos durante el transporte y la manipulación de la carne.

En España las cepas de SARM CC398 analizadas presentaron un fenotipo de multi-resistencia en el 79% de ellas<sup>78</sup>.

Las variantes resistentes de estafilococos se aíslan habitualmente del tracto gastrointestinal del porcino, por lo que su transmisión al tejido muscular debe ser evitada con prácticas como el escaldado post-evisceración con agua a 85°C durante 20 segundos<sup>79</sup>. Otras intervenciones antimicrobianas recomendadas además del agua caliente son el empleo de ácidos orgánicos, cloro o sales que pueden reducir la carga microbiana en más de 2 unidades logarítmicas.

La ultracongelación posterior a temperaturas de -10 a -25°C durante 60 minutos seguidas de congelación a -2°C durante 23 horas, reducen la carga bacteriana 1 log UFC cm<sup>-2</sup> en las canales<sup>80</sup>.

La seguridad alimentaria constituye hoy en día una preocupación mundial y organismos tanto nacionales como internacionales lo consideran una prioridad.

El hallazgo de cepas SARM en animales no sólo es importante desde el punto de vista de la salud animal y desde una perspectiva económica, sino que pueden actuar como reservorio zoonótico, introducirse en la cadena alimentaria y causar infecciones al hombre.

La combinación de la detección de genes que codifican la producción de enterotoxinas y el gen *mecA* puede proporcionar información sobre la presencia de cepas resistentes en las intoxicaciones y dar idea de la importancia de los alimentos como vehículo de transmisión de resistencias antimicrobianas.

El hecho de que la Organización Mundial de la Salud haya incluido a SARM como “una prioridad global en la lista de bacterias resistentes a antibióticos para la búsqueda, el descubrimiento y desarrollo de nuevos antibióticos” (*World Health Organization* 2017), muestra la importancia de SARM desde el punto de vista de Salud Pública.

## CONCLUSIONES

1. La prevalencia de SARM en el Hospital Royo Villanova de Zaragoza es mayor del 40%, muy superior a la media en España.
2. El hecho de estar el hospital en una zona con un elevado número de residencias de ancianos que incrementan el perfil de asistencia y reúnen muchos más factores de riesgo para portar bacterias multirresistentes puede influir en la mayor prevalencia observada en nuestro sector sanitario.
3. Es conocido que la resistencia a tetraciclina es un buen marcador de cepas de SARM-AG. La prevalencia de SARM Tet<sup>R</sup> respecto a SARM se sitúa entre el 9-12% a lo largo de los tres años objeto de estudio, lo que parece estar en relación con una elevada densidad de granjas de porcino en el entorno. Este porcentaje parece sumarse a la prevalencia, ya elevada, de SARM hospitalario y al comunitario.
4. La detección de *S.aureus* en piel, partes blandas y tracto respiratorio corrobora las características de colonización y transmisión de este patógeno.
5. El linaje SARM del CC398 presenta un perfil de multi-resistencia habitual.
6. Las medias de edades evidencian diferencias de hasta 15 años entre pacientes con SARM o SARM. Además, las medianas aumentan a lo largo del periodo de estudio, de igual modo que el porcentaje de mujeres con SARM.
7. La relación con ganado porcino se considera un factor de riesgo para la presencia de multirresistentes, aumentando el porcentaje de colonización y de infección por SARM. Esto tiene consecuencias tanto en el propio paciente como en el sistema sanitario, por ello sería recomendable hacer constar en la Historia Clínica, en anamnesis, datos sobre la profesión o el contacto con ganado.
8. Se debería incidir en el riesgo que supone la introducción de SARM en la cadena alimentaria y en la importancia de incrementar la vigilancia de SARM en alimentos de origen animal ya que además de suponer un riesgo para la inocuidad alimentaria, pueden contribuir a la diseminación de cepas portadoras de genes de resistencia antibiótica.
9. La identificación de SARMs (con la detección de la presencia del gen *mecA*) es importante no sólo en los alimentos, sino también en los manipuladores por su contribución a la contaminación cruzada con los productos alimenticios.
10. SARM debería ser considerado una prioridad crítica en la lista de bacterias resistentes a antibióticos para el descubrimiento y desarrollo de nuevos antibióticos tal como propone la Organización Mundial de la Salud por constituir un problema creciente de Salud Pública no sólo en el ámbito de salud humana sino también veterinaria.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Procop GW, Church DL, Hall GS, Janda WM, Koneman EW, Schreckenberger PC, et al. Koneman's Color Atlas & Textbook of Diagnostic Microbiology. Foreign Language Annals. 2017. 670–719 p.
2. Nilsson P, Ripa T. Staphylococcus aureus throat colonization is more frequent than colonization in the anterior nares. J Clin Microbiol. 2006;44:3334–9.
3. Weigelt JA, Lipsky BA, Tabak YP, Derby KG, Kim M, Gupta V. Surgical site infections: Causative pathogens and associated outcomes. Am J Infect Control. 2010;38:112–20.
4. Rodríguez-Créixems M, Alcalá L, Muñoz P, Cercenado E, Vicente T, Bouza E. Bloodstream infections: Evolution and trends in the microbiology workload, incidence, and etiology, 1985-2006. Medicine (Baltimore). 2008;87(4):234–49.
5. Nadji G, Réyadi JP, Coviaux F, Mirode AA, Brahim A, Enriquez-Sarano M, et al. Comparison of clinical and morphological characteristics of Staphylococcus aureus endocarditis with endocarditis caused by other pathogens. Heart. 2005;91:932–7.
6. El-Ahdab F, Benjamin DK, Wang A, Cabell CH, Chu VH, Stryjewski ME, et al. Risk of endocarditis among patients with prosthetic valves and Staphylococcus aureus bacteremia. Am J Med. 2005;118:225–9.
7. Tande AJ, Palraj BR, Osmon DR, Berbari EF, Baddour LM, Lohse CM, et al. Clinical Presentation, Risk Factors, and Outcomes of Hematogenous Prosthetic Joint Infection in Patients with Staphylococcus aureus Bacteremia. Am J Med. 2016;129:11–221.
8. Muder RR, Brennen C, Rihs JD, Wagener MM, Obman A, Obman A, et al. Isolation of Staphylococcus aureus from the Urinary Tract: Association of Isolation with Symptomatic Urinary Tract Infection and Subsequent Staphylococcal Bacteremia. Clin Infect Dis. 2006;42:46–50.
9. Rammelkamp CH, Maxon T. Resistance of Staphylococcus aureus to the Action of Penicillin. Proc Soc Exp Biol Med. 1942;386-89.
10. Gordon RJ, Lowy FD. Pathogenesis of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Infection. Clin Infect Dis. 2008;46:S350–9.
11. Fishovitz J, Hermoso JA, Chang M, Mobashery S. Penicillin-binding protein 2a of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. IUBMB Life. 2014. p. 572–7.
12. Lozano C, Aspiroz C, Sáenz Y, Ruiz-García M, Royo-García G, Gómez-Sanz E, et al. Genetic environment and location of the *lnu(A)* and *lnu(B)* genes in methicillin-resistant Staphylococcus aureus and other staphylococci of animal and human origin. J Antimicrob Chemother. 2012;67:2804–8.

13. Zou D, Xie K, Wang H, Chen Y, Xie M. Inhibitory effects of biochanin A on the efflux pump of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Wei Sheng Wu Xue Bao*. 2014;54(10):1204–11.
14. McLaws FB, Larsen AR, Skov RL, Chopra I, O’Neill AJ. Distribution of fusidic acid resistance determinants in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(3):1173–6.
15. Seah C, Alexander DC, Louie L, Simor A, Low DE, Longtin J, et al. MupB, a new high-level mupirocin resistance mechanism in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(4):1916–20.
16. Jevons MP, Rolinson GN, Knox R. Celbenin-resistant staphylococci. *Br Med J*. 1961;1:124–5.
17. Vaqué J RJ. Estudio EPINE-EPPS 2015 - Informe global de España. *Soc Española Med Prev Salud Pública e Hig*. 2015.
18. Udo EE, Pearman JW, Grubb WB. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. *J Hosp Infect*. 1993;25:97–108.
19. Etienne J. Panton-Valentine Leukocidin: A Marker of Severity for *Staphylococcus aureus* Infection? *Clin Infect Dis*. 2005;41:591–3.
20. Devriese LA, Van Damme LR, Fameree L. Methicillin (Cloxacillin)-Resistant *Staphylococcus aureus* strains Isolated from Bovine Mastitis Cases. *Zentralblatt für Veterinärmedizin R B*. 1972;19:598–605.
21. Armand-Lefevre L, Ruimy R, Andremont A. Clonal comparison of *Staphylococcus* from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:711–4.
22. Voss A, Loeffen F, Bakker J. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect ....* 2005;11:1965–6.
23. Aspiroz C, Lozano C, Vindel A, Lasarte JJ, Zarazaga M, Torres C. Skin lesion caused by ST398 and ST1 MRSA, Spain. *Emerging Infectious Diseases*. 2010. p. 157–9.
24. Feingold BJ, Silbergeld EK, Curriero FC, van Cleef BAGL, Heck MEOC, Kluytmans JAJW. Livestock density as risk factor for livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, the Netherlands. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:1841–9.
25. Van Cleef BAGL, Broens EM, Voss A, Huijsdens XW, Züchner L, Van Benthem BHB, et al. High prevalence of nasal MRSA carriage in slaughterhouse workers in contact with live pigs in the Netherlands. *Epidemiol Infect*. 2010;138:756–63.
26. van den Broek IVF, Van Cleef BAGL, Haenen A, Broens EM, van der Wolf PJ, van den Broek MJM, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. *Epidemiol Infect*. 2009;137:700–8.

27. Schulz J, Friese A, Klees S, Tenhagen BA, Fetsch A, Rösler U, et al. Longitudinal study of the contamination of air and of soil surfaces in the vicinity of pig barns by livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78:5666–71.
28. Köck R, Siam K, Al-Malat S, Christmann J, Schaumburg F, Becker K, et al. Characteristics of hospital patients colonized with livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 versus other MRSA clones. *J Hosp Infect*. 2011;79:292–6.
29. Lee AS, De Lencastre H, Garau J, Kluytmans J, Malhotra-Kumar S, Peschel A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Prim*. 2018;4:1–23.
30. Goerge T, Lorenz MB, van Alen S, Hübner NO, Becker K, Köck R. MRSA colonization and infection among persons with occupational livestock exposure in Europe: Prevalence, preventive options and evidence. *Vet Microbiol*. 2017;200:6–12.
31. Lakhundi S, Zhang K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31:1–103.
32. Schwarz S, Feßler AT, Loncaric I, Wu C, Kadlec K, Wang Y, et al. Antimicrobial Resistance among *Staphylococci* of Animal Origin. *Microbiol Spectr*. 2018.
33. Seier-Petersen MA, Nielsen LN, Ingmer H, Aarestrup FM, Agersø Y. Biocide susceptibility of *Staphylococcus aureus* CC398 and CC30 isolates from pigs and identification of the biocide resistance genes, *qacG* and *qacC*. *Microb Drug Resist*. 2015;21:527–36.
34. Benito D, Gómez P, Lozano C, Estepa V, Gómez-Sanz E, Zarazaga M, et al. Genetic lineages, antimicrobial resistance, and virulence in *staphylococcus aureus* of meat samples in Spain: Analysis of immune evasion cluster (IEC) genes. *Foodborne Pathog Dis*. 2014;11:354–6.
35. Benito D, Lozano C, Rezusta A, Ferrer I, Vasquez MA, Ceballos S, et al. Characterization of tetracycline and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains in a Spanish hospital: Is livestock-contact a risk factor in infections caused by MRSA CC398? *Int J Med Microbiol*. 2014;304:1226–32.
36. Harrison EM, Coll F, Toleman MS, Blane B, Brown NM, Török ME, et al. Genomic surveillance reveals low prevalence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the East of England. *Sci Rep*. 2017;7:7406.
37. Ceballos S, Aspiroz C, Ruiz-Ripa L, Reynaga E, Azcona-Gutiérrez JM, Rezusta A, et al. Epidemiology of MRSA CC398 in hospitals located in Spanish regions with different pig-farming densities: a multicentre study. *J Antimicrob Chemother*. 2019;1–5.
38. Umeda K, Nakamura H, Yamamoto K, Nishina N, Yasufuku K, Hirai Y, et al. Molecular and epidemiological characterization of staphylococcal foodborne outbreak of

- Staphylococcus aureus* harboring *seg*, *sei*, *sem*, *sen*, *seo*, and *selu* genes without production of classical enterotoxins. *Int J Food Microbiol*. 2017;256:30–5.
39. Schmidt T, Kock MM, Ehlers MM. Antimicrobial Resistance in Staphylococci at the Human– Animal Interface. In: *Antimicrobial Resistance - An Open Challenge*. 2015. p. 87–129.
  40. Schelin J, Wallin-Carlquist N, Cohn MT, Lindqvist R, Barker GC, Rådström P. The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*. 2011;93:8–12.
  41. Reynaga E. Prevalencia de *staphylococcus aureus* resistente a meticilina CC398 en un área con una alta densidad de granjas de cerdos. 2017. p. 1–152.
  42. Broens EM, Graat EAM, Van Der Wolf PJ, Van De Giessen AW, De Jong MCM. Transmission of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* among pigs during transportation from farm to abattoir. *Vet J*. 2011;189:302–5.
  43. Alt K, Fetsch A, Schroeter A, Guerra B, Hammerl JA, Hertwig S, et al. Factors associated with the occurrence of MRSA CC398 in herds of fattening pigs in Germany. *BMC Vet Res*. 2011;7:69.
  44. van de Vijver LPL, Tulinski P, Bondt N, Mevius D, Verwer C. Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) in organic pig herds in the Netherlands. *Zoonoses Public Health*. 2014;61:338–45.
  45. Ferguson DD, Smith TC, Hanson BM, Wardyn SE, Donham KJ. Detection of Airborne Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Inside and Downwind of a Swine Building, and in Animal Feed: Potential Occupational, Animal Health, and Environmental Implications. *J Agromedicine*. 2016;21:149–53.
  46. Morcillo A, Castro B, Rodríguez-Álvarez C, González JC, Sierra A, Montesinos MI, et al. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and pig workers in Tenerife, Spain. *Foodborne Pathog Dis*. 2012;9(3).
  47. van Cleef BAGL, van Benthem BHB, Verkade EJM, van Rijen M, Kluytmans-van den Bergh MFQ, Schouls LM, et al. Dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* carriage in pig farmers: A prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2014;10:764–71.
  48. Cuny C, Wieler LH, Witte W. Livestock-Associated MRSA: The impact on humans. *Antibiotics*. 2015;4:521–43.
  49. Gilbert MJ, Bos MEH, Duim B, Urlings BAP, Heres L, Wagenaar JA, et al. Livestock-associated MRSA ST398 carriage in pig slaughterhouse workers related to quantitative environmental exposure. *Occup Environ Med*. 2012;69(7):472–8.
  50. Verkade E, Kluytmans J. Livestock-associated *Staphylococcus aureus* CC398: Animal

- reservoirs and human infections. *Infect Genet Evol.* 2014;21:523–30.
51. Cuny C, Nathaus R, Layer F, Strommenger B, Altmann D, Witte W. Nasal colonization of humans with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 with and without exposure to pigs. *PLoS One.* 2009;4:6800.
  52. Lozano C, López M, Gómez-Sanz E, Ruiz-Larrea F, Torres C, Zarazaga M. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in food samples of animal origin in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64:1325–6.
  53. Witte W, Strommenger B, Stanek C, Cuny C. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in humans and animals, central Europe. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:255–8.
  54. Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR. Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins (Basel).* 2010;2:1751–73.
  55. Castro A, Santos C, Meireles H, Silva J, Teixeira P. Food handlers as potential sources of dissemination of virulent strains of *Staphylococcus aureus* in the community. *J Infect Public Health.* 2016;9:153–60.
  56. Tan SL, Lee HY, Mahyudin NA. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from food handler's hands. *Food Control.* 2014;44:203–7.
  57. Jones TF, Kellum ME, Porter SS, Bell M, Schaffner W. An outbreak of community-acquired foodborne illness caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis.* 2002;8:82–4.
  58. Kluytmans J, Van Leeuwen W, Goessens W, Hollis R, Messer S, Herwaldt L, et al. Food-initiated outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* analyzed by pheno- and genotyping. *J Clin Microbiol.* 1995;33:1121–8.
  59. Wardyn SE, Forshey BM, Farina SA, Kates AE, Nair R, Quick MK, et al. Swine farming is a risk factor for infection with and high prevalence of carriage of multidrug-resistant *staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2015;61:59–66.
  60. Zarfel G, Krziwanek K, Johler S, Hoenigl M, Leitner E, Kittinger C, et al. Virulence and antimicrobial resistance genes in human MRSA ST398 isolates in Austria. *Epidemiol Infect.* 2013;141:888–92.
  61. Traversa A, Gariano GR, Gallina S, Bianchi DM, Orusa R, Domenis L, et al. Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from food and wild animal carcasses in Italy. *Food Microbiol.* 2015;52:154–8.
  62. Bortolaia V, Espinosa-Gongora C, Guardabassi L. Human health risks associated with antimicrobial-resistant enterococci and *Staphylococcus aureus* on poultry meat. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22:130–40.



63. Weese JS, Avery BP, Reid-Smith RJ. Detection and quantification of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clones in retail meat products. *Lett Appl Microbiol*. 2010;51:338–42.
64. Van Loo IHM, Diederer BMW, Savelkoul PHM, Woudenberg JHC, Roosendaal R, Van Belkum A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat products, the Netherlands. *Emerg Infect Dis*. 2007;
65. Normanno G, Corrente M, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Parisi A, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. *Int J Food Microbiol*. 2007;45(5):535–9.
66. Rhee CH, Woo GJ. Emergence and characterization of foodborne methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Korea. *J Food Prot*. 2010;73(12):2285–90.
67. O'Brien AM, Hanson BM, Farina SA, Wu JY, Simmering JE, Wardyn SE, et al. MRSA in conventional and alternative retail pork products. *PLoS One*. 2012;7:30092.
68. de Boer E, Zwartkruis-Nahuis JTM, Wit B, Huijsdens XW, de Neeling AJ, Bosch T, et al. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in meat. *Int J Food Microbiol*. 2009;134:52–6.
69. Weese JS, Reid-Smith R, Rousseau J, Avery B. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) contamination of retail pork. *Can Vet J*. 2010;51:749–52.
70. Molla B, Byrne M, Abley M, Mathews J, Jackson CR, Fedorka-Cray P, et al. Epidemiology and genotypic characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains of porcine origin. *J Clin Microbiol*. 2012;50(11):3687–93.
71. Beneke B, Klees S, Stührenberg B, Fetsch A, Kraushaar B, Tenhagen BA. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a fresh meat pork production chain. *J Food Prot*. 2011;74:126–9.
72. Argudín MA, Tenhagen BA, Fetsch A, Sachsenröder J, Käsbohrer A, Schroeter A, et al. Virulence and resistance determinants of German *Staphylococcus aureus* ST398 isolates from nonhuman sources. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77:3052–60.
73. Moshtagheian S, Halaji M, Sedaghat H, Shahin M, Esfahani BN, Havaei SR, et al. Molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage from hospitalized patients and medical staff in Isfahan, Iran. *Ann di Ig*. 2018;30(3):237–44.
74. Valero A, Pérez-Rodríguez F, Carrasco E, Fuentes-Alventosa JM, García-Gimeno RM, Zurera G. Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus*: Effect of temperature, pH and water activity. *Int J Food Microbiol*. 2009;133:186–94.
75. Jans C, Merz A, Johler S, Younan M, Tanner SA, Kaindi DWM, et al. East and West African milk products are reservoirs for human and livestock-associated *Staphylococcus*

- aureus. Food Microbiol. 2017;65:64–73.
76. Li G, Wu C, Wang X, Meng J. Prevalence and characterization of methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 isolates from retail foods. Int J Food Microbiol. 2015;196:94–7.
  77. Zehra A, Gulzar M, Singh R, Kaur S, Gill JPS. Prevalence, multidrug resistance and molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in retail meat from Punjab, India. J Glob Antimicrob Resist. 2019;16(152–158).
  78. Ceballos S. Cepas clínicas de SARM de líneas genéticas asociadas a animales: epidemiología, genómica, proteómica y nuevos antimicrobianos. 2018. p. 1–276.
  79. Gill CO, McGinnis DS, Bryant J, Chabot B. Decontamination of commercial, polished pig carcasses with hot water. Food Microbiol. 1995;12:143–9.
  80. Loretz M, Stephan R, Zweifel C. Antibacterial activity of decontamination treatments for pig carcasses. Food Control. 2011;22:1121–5.