



Facultad de Veterinaria  
Universidad Zaragoza



# Trabajo Fin de Grado en

Veterinaria

SARM como posible agente patógeno de transmisión alimentaria

MRSA as a possible foodborne pathogen

Autor/es

Patricia Maguilla García

Director/es

M<sup>a</sup> Pilar Conchello Moreno  
Antonio Herrera Marteache

Facultad de Veterinaria

2019 - 2020

---

## ÍNDICE

<b>Resumen .....</b>	<b>2</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>2</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>4</b>
<b>Justificación y objetivos .....</b>	<b>6</b>
<b>Metodología.....</b>	<b>7</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>9</b>
1. El agente: <i>Staphylococcus aureus</i> y las cepas resistentes a antibióticos .....	9
2. SARM como agente de peligro en la cadena alimentaria .....	11
3. Prevalencia y epidemiología del SARM-AG en la cadena alimentaria .....	14
4. Riesgo alimentario asociado a SARM.....	21
5. Gestión del riesgo de SARM en la cadena alimentaria .....	23
6. Comunicación del riesgo de SARM en la cadena alimentaria.....	28
<b>Conclusiones.....</b>	<b>30</b>
<b>Conclusions .....</b>	<b>31</b>
<b>Valoración personal.....</b>	<b>32</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>33</b>

## Resumen

Las enfermedades de transmisión alimentaria están causadas por el consumo de alimentos o agua contaminados por microorganismos patógenos tales como bacterias, virus y parásitos. Estos agentes entran en el organismo a través del tracto gastrointestinal donde generalmente suceden los primeros síntomas, debido o bien a su presencia, a la presencia de toxinas preformadas de algunos de estos agentes, o a la propia producción de toxinas dentro del organismo. El riesgo de contaminación de los alimentos por estos microorganismos está presente desde el primer momento en la producción primaria hasta que el alimento está en nuestra mesa, y requiere una adecuada prevención y control durante toda la cadena alimentaria. Los patógenos de transmisión alimentaria son una amenaza global y extendida en el ámbito de la Salud Pública.

En este trabajo de fin de grado se ha propuesto realizar un análisis acerca de la posible implicación de las cepas resistentes a antibióticos de *Staphylococcus aureus* (SARM) en la cadena alimentaria. Con este objetivo, se ha realizado una extensa revisión bibliográfica acerca de la actual evidencia que pueda sugerir la posibilidad de que dichas cepas también tengan su papel en la transmisión por vía alimentaria de este agente. Esta revisión se ha llevado a cabo mediante consultas a través de palabras clave en numerosas bases de datos científicas, legislativas y agencias de seguridad alimentaria europeas e internacionales.

## Abstract

Foodborne illnesses are caused mainly by the consumption of contaminated food or water by pathogenic microorganisms such as bacteria, viruses and parasites. These agents enter the human body through the gastrointestinal tract, where the first symptoms usually occur, due either to their presence or the presence of preformed toxins from some of the mentioned pathogenic agents, or even caused by the production of the toxins inside of the organism. The risk of food contamination by these microorganisms is present from the first moment in primary production until the food arrives to our table, and requires an adequate prevention and control during all the food chain. Foodborne pathogens are a global threat and widely spread in Public Health.

In this final degree project, an analysis about the possible implication of antibiotic resistant strains of *S. aureus* (MRSA) in the food chain has been proposed. With this aim, an extensive bibliographic review has been carried out about the current evidence that may suggest the possibility of these strains playing a role in the food transmission of the agent as well. This review has been accomplished by searching key words in a large number of scientific and legislative databases and European and International food safety agencies.

## Introducción

*Staphylococcus aureus* es una bacteria que se encuentra habitualmente formando parte de la microbiota normal del hombre y de los animales (piel, nariz, bucofaringe, tracto intestinal), sin causar enfermedad. Esta bacteria está implicada en intoxicaciones alimentarias por la ingestión de alimentos contaminados por la enterotoxina estafilocócica preformada. Estas toxinas son proteínas termorresistentes que causan en el organismo una variedad de síntomas asociados a gastroenteritis, cuya intensidad y gravedad dependen en gran medida del hospedador. Las toxinas actúan rápido en el organismo y por ello los síntomas empiezan a las pocas horas de la ingestión, entre ellos se incluyen vómitos, diarreas, cefaleas, dolores musculares y dolores articulares, y pueden durar entre 1 y 2 días. Después de este periodo los síntomas usualmente desaparecen ya que las toxinas son eliminadas. No obstante, en algunos casos, el individuo que ha ingerido el alimento contaminado puede requerir la hospitalización.

Por otra parte, *S. aureus* puede convertirse en un importante patógeno oportunista capaz de causar diversas infecciones, desde simples infecciones de piel hasta infecciones más severas, que pueden ser fatales. En este contexto preocupa la diseminación de cepas de *S. aureus* resistentes a antimicrobianos, siendo especialmente relevante la resistencia a meticilina (SARM, MRSA por sus siglas en inglés).

Estas cepas son actualmente una causa importante de infecciones nosocomiales en muchos países europeos y suponen un gran problema en las sociedades modernas al estar asociadas a resistencias a los antibióticos más comunes. Estas cepas resultan pues muy difíciles de manejar por parte de los profesionales de la salud ya que su resistencia hace que el tratamiento no sea eficaz en muchos casos.

Su diseminación es cada vez mayor debido a su capacidad de establecer nuevos reservorios. SARM se ha identificado entre otros en animales de abasto especialmente cerdos y hay evidencias de una transmisión zoonótica por contacto estrecho entre hombre y animales.

Por estas características, la posible asociación de estas cepas con una vía de transmisión como es el consumo de alimentos contaminados supone un nuevo peligro emergente para la salud pública global, no solo por el riesgo de provocar intoxicaciones sino por la posible diseminación de las resistencias antimicrobianas asociadas a estas cepas.

No obstante, todavía no existe una asociación clara entre la presencia de SARM en animales de producción y la transmisión por medio de los alimentos de estas bacterias y su resistencia antimicrobiana.

En este trabajo nos vamos a centrar concretamente en el estudio de las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a antibióticos, conocidas habitualmente como SARM (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina) y su implicación en la seguridad alimentaria, mediante la aplicación de la herramienta del análisis de riesgo.

## Justificación y objetivos

Actualmente, la garantía de inocuidad de los alimentos que consumimos tiene su fundamento primordial en el uso de medidas higiénicas en toda la cadena de producción de alimentos, desde la producción primaria hasta la llegada de dicho alimento al consumidor junto con el cumplimiento de las medidas planteadas en la legislación sobre seguridad alimentaria. Existen multitud de posibles peligros que pueden alterar esta inocuidad y, en concreto, en este trabajo vamos a estudiar el papel que tiene el *Staphylococcus aureus*, uno de los principales patógenos que afectan a la inocuidad de muchos alimentos y que supone un punto de peligro a controlar en la cadena alimentaria.

Una de las principales preocupaciones que existen alrededor de este patógeno y en la que nos vamos a centrar en este trabajo es el incremento que ha sufrido a lo largo de los años en sus cepas resistentes a antibióticos, el llamado SARM (*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina). Estas cepas son más conocidas por causar infecciones hospitalarias, pero alguna de éstas también está asociada al ganado y todavía no se sabe el papel que pueden tener en la transmisión del agente los alimentos de origen animal.

Basándonos en la importancia crucial que tiene la inocuidad de los alimentos que consumimos hoy en día, y en relación con este agente patógeno y su característica como microorganismo multirresistente, este trabajo de fin de grado tiene como objetivos los siguientes puntos:

1. Identificar y evaluar la exposición a SARM a través de la manipulación y consumo de alimentos como posible agente de peligro biológico.
2. Analizar y evaluar el papel que puede jugar la cadena alimentaria en la diseminación de SARM, aumentando así la incidencia de resistencias antimicrobianas.
3. Establecer conclusiones acerca del grado de riesgo que supone para la Salud Pública actualmente y como posible riesgo emergente futuro la entrada de estas cepas y sus resistencias en la cadena alimentaria.

## Metodología

Para realizar la revisión bibliográfica de los estudios existentes al respecto se han utilizado bases de datos científicas tales como ScienceDirect, Google Scholar y PubMed. También se ha utilizado información y publicaciones científicas publicadas por Agencias de seguridad alimentaria y otras instituciones tales como:

- Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN)
- Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (ACSA)
- Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria (ELIKA)
- European Food Safety Authority (EFSA)
- Food Safety Authority of Ireland (FSAI)
- Food and Drug Administration (FDA)
- Food Standard Agency (FSA)
- Food Standards Australia New Zealand (FSANZ)
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
- Organización mundial de la salud (OMS)

Para dirigir la búsqueda de información se ha seguido el criterio temporal entre 2010 y 2020, y las siguientes palabras claves en español/inglés:

- SARM-AG
- SARM cadena alimentaria/MRSA food chain
- MRSA associated with foodborne illness
- MRSA-LA as a foodborne pathogen
- foodborne illness aureus mrsa
- foodborne illness "prevalence of staphylococcus aureus"

Como criterios de selección para los artículos encontrados en las bases de datos se han empleado aquellos que eran relativos a la asociación entre el agente y los animales de producción (SARM asociado a ganado o por sus siglas en inglés MRSA-LA), artículos que relacionan algún caso reportado de intoxicación por toxina estafilocócica donde se relacionara con alguna cepa resistente, y artículos que vinculan la aparición de cepas resistentes a antibióticos encontradas en alimentos.

Para estructurar los resultados se ha utilizado la metodología del análisis del riesgo asociado al consumo de alimentos, que consta de 3 elementos:



- 1) Evaluación del riesgo:** es la determinación de los efectos adversos para la salud de los consumidores que pueden producirse como consecuencia de su exposición al peligro que se analiza. Aporta el conocimiento científico. Esta evaluación del riesgo se divide en 4 fases:
- a. Identificación del peligro: caracterización científica del peligro que estamos analizando y que puede constituir un riesgo para la salud.
  - b. Caracterización del peligro: evaluación cualitativa y/o cuantitativa de lo que supone el peligro en cuestión, los posibles efectos adversos que puede tener en la cadena alimentaria.
  - c. Evaluación de la exposición al peligro: evaluación cualitativa y/o cuantitativa de la exposición del peligro, prevalencia del agente, epidemiología...
  - d. Caracterización del riesgo: determinar si realmente el peligro en estudio es un riesgo para salud pública, si tenemos suficiente material para evaluarlo, si se considera un potencial riesgo emergente...
- 2) Gestión del riesgo:** todo lo relativo a la reglamentación y el control, en base a los resultados obtenidos en el primer punto de evaluación del riesgo. Medidas que se pueden adoptar relativas a prevenir, reducir y/o eliminar el riesgo que supone el peligro que estamos analizando con el fin de proteger la salud del consumidor.
- 3) Comunicación del riesgo:** interrelación de toda la información disponible recopilada sobre el peligro que hemos estudiado y su posible riesgo, cuánta información hay disponible y de qué manera podemos estipular recomendaciones al consumidor.

## Resultados

### 1. El agente: *Staphylococcus aureus* y las cepas resistentes a antibióticos

Las especies del género *Staphylococcus* son microorganismos pequeños con forma de coco, Gram-positivos, no móviles, catalasa positivos y, según la especie, pueden ser coagulasa positivos o negativos. Al examen microscópico aparecen usualmente en parejas, en cadenas cortas, o agrupadas en racimos. *Staphylococcus aureus* es la principal especie patógena del género, causa de las intoxicaciones alimentarias a las cuales nos referimos y también de otras infecciones estafilocócicas, tanto de origen hospitalario como comunitario.

Son bacterias ubicuitarias e imposibles de erradicar del ambiente, ya que las podemos encontrar en el aire, polvo, agua, alimentos de origen animal incluyendo carne y leche, alimentos procesados, equipamiento y superficies ambientales. También habitualmente se encuentra *S. aureus* en la piel y mucosas de la mayoría de animales de sangre caliente. En los humanos, se estima que entre un 20 y un 50% de la población mundial es portadora de *S. aureus* en fosas nasales, y un 30% de forma permanente en piel y tracto gastrointestinal (Cervantes-García et al., 2014). Esto hace que sea común encontrar contaminación bacteriana por este microorganismo en alimentos de origen animal ya desde el inicio de la cadena, en la producción primaria, si bien esto no quiere decir que sea este punto el que produce el mayor riesgo de contaminación alimentaria.

Los manipuladores de alimentos están frecuentemente implicados en la transmisión del microorganismo a los alimentos en las plantas de transformación del producto, donde el microorganismo sobrevive adecuadamente en el ambiente y superficies de las industrias alimentarias generando contaminación cruzada y/o recontaminación. (FSANZ, 2013)

Las cepas SARM, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, (MRSA por sus siglas en inglés, methicillin-resistant *S. aureus*) se denominan así porque son cepas que han desarrollado multirresistencias a diversos grupos de antibióticos. La resistencia a la meticilina, que indica resistencia a todos los agentes betalactámicos, se informó por primera vez en 1961, fecha que marca la aparición de SARM (Pantosti, 2012). Aunque el término de resistencia a meticilina hace referencia al grupo de los  $\beta$ -lactámicos, estas cepas en general presentan resistencias múltiples a varios grupos de antibióticos (cloranfenicol, tetraciclinas, macrólidos, aminoglucósidos, lincosaminas, quinolonas...). *Staphylococcus aureus* tiene la capacidad característica de desarrollar rápidamente estas resistencias, debido a su facilidad de adaptarse a la presión antibiótica.

Las resistencias antimicrobianas asociadas a este microorganismo están determinadas por tres mecanismos: la producción de enzimas que inactivan los antibióticos (penicilinasas o  $\beta$ -lactamasas), la modificación de las proteínas de unión a penicilinas (PBPs) y la presencia de genes que confieren resistencia intrínseca. La resistencia a la meticilina en SARM concretamente se confiere por la expresión de los genes *mecA*, *mecB* o *mecC*, que codifican una proteína de unión a penicilina modificada (designada como PBP2a). Además, también existe el fenómeno de tolerancia frente a los antibióticos, ante los cuales *S. aureus* provoca una disociación de las acciones inhibitoria y bactericida de los  $\beta$ -lactámicos (Castellano y Perozo-Mena, 2010; EFSA, 2009a).

La epidemiología del SARM puede dividirse temporalmente en tres fases. En primer lugar, durante la época de los 80, la mayoría de las infecciones causadas por este patógeno estaban asociadas comúnmente al ambiente hospitalario, presentando los pacientes varios factores de riesgo como por ejemplo la hospitalización prolongada o la cateterización. Los principales complejos clonales de la bacteria aislados de estos pacientes fueron CC5, CC8, CC22, CC30 y CC45. Estas cepas resistentes del microorganismo se denominan SARM adquirido en hospital (SARM-AH, o MRSA-HA por sus siglas en inglés). Posteriormente, ya a finales de los 90 se observó un aumento importante de la prevalencia de infecciones debidas a *S. aureus* entre grupos de personas, por el contacto humano prolongado y estrecho. Este grupo de afectados no eran pacientes hospitalizados sino personas que vivían en comunidad, como por ejemplo presidiarios, personal militar o atletas, con factores de riesgo desconocidos. Las principales cepas involucradas en este tipo de SARM asociado a comunidad (SARM-AC/MRSA-CA) pertenecen a los complejos clonales 1, 8 y 80, aunque se encontró que estas cepas no eran resistentes a tantos antibióticos como las demás. No obstante, resultaron ser más virulentas debido a la síntesis de la leucocidina de Pantón-Valentine (PVL), un tipo de toxina citolítica y leucotóxica que está asociada a algunas cepas de SARM-AH y a prácticamente todas las cepas de SARM-AC (Murray et al., 2014).

Finalmente, a principios de los años 2000, se comenzó a observar en Holanda una alta prevalencia de SARM en personas relacionadas con la cría de ganado porcino e investigaciones posteriores revelaron que los cerdos de muchas de estas ganaderías estaban altamente colonizados por SARM y la mayoría de las cepas pertenecían al complejo clonal 398, con lo que se consideraron cepas de SARM asociado al ganado (SARM-AG/MRSA-LA) (Normanno et al., 2019).

## 2. SARM como agente de peligro en la cadena alimentaria

La mayoría de las especies del género son productoras de enterotoxinas estables a altas temperaturas que son las responsables de las intoxicaciones alimentarias, produciendo cuadros gastrointestinales en humanos. Las cepas que producen este tipo de toxinas son llamadas enterotoxigénicas y pueden ser producidas en los alimentos por muchas cepas diferentes de *S.aureus*, incluidas las resistentes a antibióticos. No obstante, se sabe que las cepas formadoras de enterotoxinas son la mayoría coagulasa positivas, y muy pocas de las cepas coagulasa negativa de *S. aureus* las producen. Su formación está influenciada por parámetros como la temperatura (10 - 46°C), el pH (5 – 9,6), la actividad de agua (0,86 – 0,99), el potencial reductor (-100 a +200 mV) y por cultivos antagonistas que pueden prevenir el crecimiento del patógeno (por ejemplo, los cultivos starter utilizados en la producción de productos lácteos fermentados). Una vez formadas, las toxinas estafilocócicas son extremadamente difíciles de eliminar de los alimentos ya que son muy estables y resistentes a condiciones ambientales tales como el calor, la congelación, la irradiación y el secado. También son resistentes a las enzimas proteolíticas como la pepsina o la tripsina y a un bajo pH, permitiendo así persistir en el tracto gastrointestinal después de su ingestión. Resisten habitualmente a los procesos de pasteurización comercial e incluso permanecen estables a procesos de esterilización. Actualmente se han identificado 18 tipos distintos de enterotoxinas: A, B, C, D, E, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R y U. (FSAI, 2011; Sergelidis y Angelidis, 2017).

La contaminación de la cadena alimentaria por *S. aureus* afecta a productos alimenticios muy variados. Los alimentos de mayor riesgo son:

- Alimentos recontaminados después de recibir un tratamiento térmico o cualquier otro procedimiento similar. Si el alimento es manipulado posteriormente a dicho tratamiento, el riesgo se incrementa.
- Alimentos fermentados de acidificación lenta, ya que permite el crecimiento del microorganismo durante la fermentación.
- Alimentos que requieren una manipulación considerable durante su preparación y se mantienen sobre su temperatura idónea de refrigeración durante un periodo de tiempo demasiado elevado después de dicha preparación.
- Productos secos y de baja actividad de agua.

Estos alimentos suelen ser productos cárnicos que se ingieren crudos o derivados de estos, leche o productos lácteos, productos de repostería, pasta, productos enlatados y alimentos listos para el consumo. (ACSA, 2019).

Los requisitos para la producción de toxinas estafilocócicas en los alimentos están relacionados predominantemente con la contaminación del alimento por una cepa enterotoxigénica y por la presencia de condiciones favorables del alimento y del ambiente para el crecimiento del *S. aureus*. Además, un determinado tratamiento térmico destruye las células viables del microorganismo, pero se requieren unas condiciones mayores para destruir las toxinas preformadas, ya que como hemos mencionado, son toxinas proteicas estables a altas temperaturas y pueden permanecer activas aun a temperaturas que destruyen al *S. aureus*.

Los mecanismos patogénicos por los cuales las enterotoxinas causan la intoxicación estafilocócica todavía no son totalmente conocidos. No obstante, se ha sugerido que las toxinas de *S. aureus* estimulan los neuroreceptores del epitelio intestinal, que transmiten ese estímulo por vía nervio vago directamente al centro emético del cerebro. Es por esto por lo que todos los tipos provocan vómitos en el individuo afectado (FSANZ, 2013).

La intoxicación ocurre tras la ingestión de estos alimentos contaminados con las enterotoxinas preformadas ya en el alimento, principalmente por cepas productoras de enterotoxina A y/o D, aunque la mayoría de las cepas son productoras exclusivamente de la enterotoxina A (la más frecuentemente implicada). La cantidad de toxina necesaria para causar síntomas depende de la susceptibilidad de la persona, aunque existen algunos estudios epidemiológicos que muestran que con una cantidad pequeña como 1 µg de toxina estafilocócica ya se puede producir la intoxicación (FDA, 2012). Se ha visto que, para producir esta cantidad de toxina, una cepa enterotoxigénica necesita crecer hasta unos niveles de  $10^5/10^6$  UFC/g o mL. Los síntomas tras la ingestión de alimentos contaminados ocurren entre 1 y 7 horas después de la misma e incluyen principalmente diarrea, vómitos, náuseas y cólicos abdominales, aunque se pueden dar casos más severos y graves. La recuperación también sucede de manera rápida cuando la toxina es eliminada del organismo y suele ocurrir en un máximo de dos días (Kadariya et al., 2014).

Es necesario añadir que *S. aureus* abarca un espectro muy amplio de cepas, con diferentes grados de virulencia y patogenicidad. La importancia de la diferenciación de las cepas teniendo en cuenta su virulencia es clave también para evaluar las posibles implicaciones que puede tener el microorganismo en la Salud Pública y la seguridad alimentaria. Además de la producción de enterotoxinas, este microorganismo cuenta también con otro tipo de factores de virulencia y toxinas como pueden ser la toxina del síndrome de shock tóxico (TSST), hemolisinas, exfoliatinas

(un tipo de exotoxinas epidermolíticas) o la ya mencionada leucocidina de Panton-Valentine (PVL), comúnmente asociada a las cepas de la comunidad (Wu et al., 2019).

### 3. Prevalencia y epidemiología del SARM-AG en la cadena alimentaria

Actualmente, se conocen varias cepas de SARM asociadas a animales de producción (SARM-AG), de entre las que destaca el complejo clonal CC398. Se trata de la línea asociada al ganado más prevalente a nivel mundial y se encuentra habitualmente en granjas de porcino, terneros y pollos de engorde de explotación intensiva, donde los animales son portadores asintomáticos. El uso de antibióticos en estos animales es uno de los factores de riesgo para el aumento de la prevalencia de este SARM-AG. Esta cepa se puede encontrar también en mataderos y en la carne cruda de venta al público y, así, constituir uno de los focos de entrada del patógeno en la cadena alimentaria de los productos de origen animal. Otro punto de riesgo para la prevalencia del SARM en los alimentos, aunque en este caso no exclusivamente de cepas asociadas a ganado, sería la contaminación por medio del personal manipulador, en cualquier punto de la cadena de producción (ACSA, 2019).

En lo referente a la prevalencia global del microorganismo, SARM-AG se detectó por primera vez en 2005 en granjas de porcino de Francia y Holanda. Posteriormente se ha aislado en numerosos países del mundo, en Asia, Europa y América del Norte, y la mayoría de las veces este aislamiento ha sido relacionado con la cepa mencionada anteriormente (CC398) y sobretodo en lugares de gran densidad de ganado. Algunos investigadores (Kadariya et al., 2014) han demostrado también que aproximadamente el 20% de los casos de infección por SARM en humanos están vinculados a esta cepa predominantemente asociada al ganado, lo que sugiere que el porcino puede tener un papel clave como reservorios del SARM.

En 2017 se publicó el primer estudio de prevalencia de SARM-AG cepa CC398 en trabajadores de granjas de cerdos en Cataluña, en la comarca de Osona, estudiando también la incidencia en el ganado porcino de las explotaciones seleccionadas (Reynaga, 2017). Los resultados revelaron que de entre 140 trabajadores de 83 granjas de cerdos puestas en estudio, un 57,9% de ellos resultaron positivos para SARM, todos pertenecientes al CC398. No obstante, este porcentaje fue significativamente mayor cuando se superaba la cifra de corte de 1250 cerdos por explotación, es decir, el número de trabajadores positivos para SARM CC398 fue significativamente más alto que aquellos que trabajaban en granjas de menos de 1250 cerdos (75,8% contra 41,9% respectivamente). Respecto a la colonización del agente en los propios cerdos, se seleccionaron 20 de las 83 explotaciones anteriores para su estudio, analizando muestras de 200 cerdos de cada una de ellas (siendo 101 cerdos de cebo y 99 cerdas). De estos análisis, el 46% del total fue positivo para SARM, todos ellos CC398, con un 41,5%

correspondiente a los cerdos de cebo y el 50,5% a las cerdas. De las 20 granjas escogidas como muestra, la mediana de cerdos por granja fue de 1525, con un mínimo de 180 y un máximo de 10000. En todas las granjas seleccionadas para el análisis doble de trabajadores y ganado, había trabajadores colonizados por SARM CC398. Además, en 19 de las 20 explotaciones se detectó el SARM CC398 con un tipo similar de fenotipo de resistencia a antibióticos tanto en cerdos como en granjeros, y de estos, la mayoría presentaban un fenotipo de multirresistencias, incluyendo en todos los casos el fenotipo de resistencia a la tetraciclina (SARM-Tet<sup>R</sup>). Este hecho concuerda con estudios anteriores donde se demostró que esta resistencia a la tetraciclina es un marcador fenotípico de interés en la cepa de SARM-AG CC398. (Camoez et al., 2013)

Más recientemente, en este año 2020, se ha hecho público otro estudio de prevalencia de cepas CC398 en derivados cárnicos de cerdo en La Rioja. En este artículo también se analiza el posible papel de la cadena alimentaria en la transmisión del SARM-AG CC398 y si este complejo clonal específico podría ser un potencial agente de intoxicación alimentaria (Mama et al., 2020). Los resultados del análisis resultaron positivos para *Staphylococcus aureus* en 34 muestras de 101 analizadas (33,6%). Considerando los diferentes tipos de productos respecto al porcentaje de muestras positivas, la prevalencia fue de 24,1% en carne picada, 26,6% en filetes y 76,5% en orejas/morro. De las 34 muestras positivas para *S. aureus*, 22 de ellas correspondían a SARM y los datos respectivos a los diferentes tipos de producto fueron de 14,8%, 3,3% y 76,5%, en el orden mencionado anteriormente.

De las muestras totales de SA analizadas se recuperaron 39 aislados (25 SARM y 14 SARM-S. *aureus* sensible a meticilina), ya que en 5 de esas 34 muestras se obtuvieron 2 aislados con diferentes tipos de spa (un tipo de proteína que posee el microorganismo) y/o fenotipos de resistencia antimicrobiana. El linaje predominante en 25 de estos 39 aislados microbianos fue el CC398 (64,1%), y los otros 14 aislados pertenecían a otros complejos clonales, sin ser coincidente al fenotipo de resistencia a meticilina. Es decir, dentro de estos 14 aislados distintos del linaje CC398, solo dos eran cepas de SARM. Mayoritariamente, los 12 restantes eran cepas de SARM de linajes muy variados y estos fueron los únicos que resultaron ser portadores de genes productores de enterotoxinas.

Los 25 aislamientos de SARM CC398 fueron recuperados de 21 muestras, esto es una prevalencia global del 20,8% y con la presencia en 4 de estas muestras de dos aislados de CC398 distintos: una de carne picada portadora de ambos SARM CC398 y SARM CC398, y las otras 3 de oreja/morro con dos aislados de SARM CC398 con diferentes tipificaciones de la proteína spa o un perfil de resistencia antimicrobiana distinto entre sí.

Este estudio resume con evidencia muy actual que la prevalencia de SARM es elevada y, además, muy variada respecto a los complejos clonales que se hallaron en las muestras, además de que



el SARM también está muy presente en los alimentos analizados. Es importante observar también que solo los aislados de SARM mostraron genes que producen enterotoxinas, con lo que en este estudio en particular no se evidencia una relación clara entre intoxicaciones por toxina estafilocócica con la prevalencia de SARM-AG. No obstante, sí que parece ser preocupante la diversidad de resistencias antimicrobianas halladas en los aislados de las muestras de productos cárnicos.

Hablando ya en términos más globales, en Europa también encontramos múltiples evidencias de la presencia de SARM en muestras de alimentos, sobretodo de origen animal. En 2015, un estudio en Reino Unido llevado a cabo por Fox et al. (2017) determinó la presencia de SARM-AG en muestras de diferentes tipos de carne, puesto que hasta la fecha la presencia había sido informada esporádicamente y los datos disponibles muy limitados. El estudio se llevó a cabo entre marzo y julio de 2015 y se recogieron 124 muestras de carne cruda de diversas tiendas de venta al por menor, de las cuales 63 muestras fueron de cerdo, 50 de pollo y 11 de pavo. Un 3% de estas muestras (4 de pollo, 3 de cerdo y dos de pavo) fueron positivas para SARM, y se confirmó que pertenecían al complejo clonal 398. No obstante, a pesar de la presencia del microorganismo, la cantidad de éste presente en las muestras fue generalmente baja (<20 UFC/g) y en este caso, no poseían genes productores de enterotoxinas, cosa que sugiere que el riesgo de intoxicación alimentaria debido al SARM-AG en estas muestras fue bajo. Sin embargo, cabe matizar que la tasa de contaminación por SARM encontrada en este estudio fue más alta que la estimada previamente.

En Italia, Traversa et al. (2015) realizaron un estudio con 2162 muestras de diversa índole para investigar la aparición de resistencia a la meticilina en cepas de *S. aureus* aisladas de los alimentos analizados. La prevalencia total fue del 17,1% (370 muestras positivas), siendo la asociación estadísticamente significativa en cepas de las muestras de queso de vaca (155 positivas de 476 analizadas, 32,6%) y las de leche del tanque a granel (107 de 261, 41%). De las muestras de queso positiva, dos de ellas habían sido recolectadas durante brotes de intoxicación alimentaria y dieron positivo en presencia de enterotoxinas estafilocócicas. Respecto a la presencia de cepas resistentes entre las muestras positivas se observó una baja incidencia de SARM, con solo dos muestras resistentes a cefoxitina en las pruebas de difusión en disco, ambas de la leche de tanque (2/261, 0,77%) y se halló también el gen *mecA* (relacionado con el fenotipo de resistencia) mediante ensayos de PCR. En conclusión, la prevalencia de SARM en este estudio fue muy baja en las muestras de alimentos analizadas (2 de 2162, 0,09%) lo que, en este caso en concreto, sugiere un riesgo pobre o limitado de transmisión a los humanos. Sin embargo, resultó significativo que la presencia de dichas cepas se hallara en muestras de leche de tanque

ya que abre la posibilidad de que animales sanos o vacas con mastitis subclínica puedan desempeñar un papel importante también en la propagación de SARM entre los animales, los humanos y el entorno. Este aspecto resulta particularmente interesante en países como Italia donde el consumo de una amplia variedad de quesos elaborados con leche cruda, así como leche cruda vendida en máquinas expendedoras se ha convertido en algo muy popular en los últimos años.

También en Italia, Basanisi et al. (2016) analizaron un total de 3760 muestras de leche y productos lácteos de varias explotaciones lecheras de la provincia de Apulia, de las cuales en 484 (12,9%) se pudo aislar alguna cepa de *S. aureus* y 40 de esas 484 positivas eran cepas SARM (8,3%), confirmadas mediante ensayos PCR para la determinación del gen *mecA* de resistencia a meticilina y también por test de difusión en disco. En las cepas SARM halladas se analizó también la presencia de genes productores de enterotoxinas, que resultaron presentes en 3 de los 40 aislados (7,5%). Esto supone que el riesgo de intoxicación por toxina estafilocócica puede ser asociado al consumo de leche y de productos lácteos especialmente en ausencia de condiciones estrictas de higiene a lo largo de la cadena alimentaria para evitar las SEs. A pesar de los pocos casos reportados y la baja evidencia que existe todavía, no se puede excluir el riesgo de intoxicaciones a causa de SARM enterotoxigénico.

Aunque podemos ver que no hay evidencia muy esclarecedora que relacione la prevalencia de cepas SARM en alimentos con la producción de enterotoxinas o genes que codifican la producción de éstas, sí que encontramos algunos estudios que sugieren que podría haber algún porcentaje de intoxicaciones causadas por cepas resistentes a antibióticos. Además de los que hemos presentado ya, donde se confirmaron que algunas cepas de SARM halladas también eran productoras de enterotoxinas, existen otros reportes que también encontraron esta asociación. Por ejemplo, en Portugal, Pereira et al. (2009) aislaron 28 cepas de SARM en alimentos de origen animal (productos cárnicos crudos y fermentados, leche cruda y productos lácteos) que resultaron ser enterotoxigénicas y resistentes a oxacilina. No obstante, no existe evidencia de correlación positiva entre exposición a cepas enterotoxigénicas con la resistencia a antibióticos de estas, o de que se comporten distinto las cepas resistentes frente a las sensibles. Por tanto, si un alimento reúne las condiciones de producción y almacenamiento para la producción de enterotoxinas, las cepas SARM con genes productores de dichas toxinas serán capaces de producirlas, independientemente del factor de resistencia antibiótica.

La incidencia de SARM involucrado en intoxicaciones alimentarias y la presencia de este en alimentos podría estar severamente infraestimada, ya que algunas de las intoxicaciones

asociadas a *S.aureus* podrían haber sido causadas por cepas enterotoxigénicas resistentes a antibióticos.

Sin embargo, también es importante matizar que la resistencia a antibióticos de las cepas de *S. aureus* tiene cierta importancia en algunas condiciones tales como aquellas que provocan diarrea asociada al consumo de antibióticos. Algunos estudios (Sergelidis y Angelidis, 2017) han sugerido que la alteración del microbiota del intestino que producen estos medicamentos parece contribuir a la expresión de las propiedades patogénicas de SARM en el tracto intestinal, como la producción de las enterotoxinas.

Otra circunstancia que debería considerarse como posible vía de diseminación de SARM es la entrada de alimentos de manera ilegal o la venta fraudulenta de los mismos (mercado negro). En relación a estos, se reportó un caso de un queso confiscado ilegalmente de un pasajero que provenía de un vuelo de El Cairo, en el aeropuerto de Viena, inicialmente clasificado como *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) siendo en realidad una cepa de SARM, positiva para el gen *mecA* pero sensible a oxacilina (SO-SARM). Además, la cepa aislada presentaba genes relacionados con enterotoxinas y hemolisinas: *sed*, *hly/hla*, *hlgABC* y *hld* (enterotoxina D,  $\alpha$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -hemolisina, respectivamente). En este estudio donde fue hallado el queso contaminado, se inspeccionaron otros 600 alimentos confiscados en el Aeropuerto Internacional de Viena a pasajeros de vuelos de países de fuera de la UE para detectar la presencia de SARM, entre agosto de 2012 y marzo de 2013 (Rodríguez-Lázaro et al., 2017). La presencia de cepas de *S. aureus* con gen *mecA* positivo y susceptibles a oxacilina (SO-SARM) ya se había reportado en otras partes del mundo, aunque este caso fue el primer informe dentro de Europa. Se debe considerar la correcta identificación de las cepas como un aspecto muy importante en futuros estudios de prevalencia e identificación de *S. aureus* en alimentos, ya que un error en la clasificación del microorganismo puede llevar al desarrollo de nuevas variantes resistentes y al fracaso del tratamiento con  $\beta$ -lactámicos (Quijada et al., 2019). En otro estudio se recolectaron también 200 muestras de alimentos vendidos en el mercado negro en una frontera de la UE, entre Rumanía y la República de Moldavia, donde 32 aislados fueron aislados para *S. aureus* y de estos uno correspondía a una cepa SARM, y los 3 restantes a cepas SASM. Aunque la incidencia podemos ver que fue muy baja (0,5%), los aislados que fueron sensibles a meticilina (SASM) presentaban igualmente resistencias a otros antibióticos, como por ejemplo a la penicilina (29%), a la tetraciclina (9,7%) y a la ciprofloxacina (3,2%).

Así pues, no debemos minusvalorar el papel potencial de transmisión de SARM en la cadena alimentaria que constituyen los alimentos introducidos de manera ilegal en la UE ya que,

además, puede constituir un nuevo foco para el desarrollo de clones con diferentes resistencias antimicrobianas del microorganismo, al ser una vía poco controlada (Oniciuc et al., 2015).

Podemos extrapolar la epidemiología del SARM-AG a otros países más lejanos, ya que la prevalencia del microorganismo y su papel como posible riesgo emergente en la Salud Pública parece ser un foco de preocupación en todo el mundo, no solo en los países miembros de la Unión Europea.

En Estados Unidos, Kadariya et al. (2014) informan que en un estudio de 2013 realizado en Georgia, se reveló que un 45% de productos de carne de cerdo y un 63% de productos de bovino estaban contaminados con *S.aureus*, y de ellos, un 3 y un 4% respectivamente se correspondían con cepas resistentes a antibióticos. También en Louisiana se aisló el microorganismo de un 39,2% de muestras de carne de venta al por menor, de las cuales un 5% fueron SARM. Otro estudio más amplio realizado en los estados de Iowa, Minnesota y Nueva Jersey mostró una alta prevalencia de *S. aureus* (64,8%) en productos cárnicos de cerdo, con un porcentaje del 6,6% para SARM. Relacionado con un brote, también existe evidencia en la que una familia de E.E.U.U. reportó enfermedad gastrointestinal asociada al consumo de alimentos, se recogieron muestras de heces de los 3 miembros de la familia que fueron afectados y se vio que la intoxicación se había producido por la ingesta del alimento contaminado con una cepa de *S. aureus* enterotoxigénica productora de toxina estafilocócica C y se identificó también como cepa resistente a antibióticos. (Kadariya et al., 2014)

Canadá también ha experimentado un aumento de las tasas de colonización e infección por SARM durante la última década. Aunque históricamente se ha asociado la epidemiología del microorganismo a infecciones nosocomiales, las cepas adquiridas en la comunidad y, más recientemente, las asociadas al ganado están cambiando la tendencia de aumento del *S. aureus* resistente a metilina. Actualmente en este país está muy poco documentada la incidencia de SARM como causa de enfermedad de transmisión alimentaria. En el estudio que se muestra a continuación (Crago et al., 2012), realizado en Alberta entre 2007 y 2010, se analizaron 693 muestras de alimentos provenientes de restaurantes, proveedores alimenticios u hogares que habían originado algún caso o brote de intoxicación alimentaria, para determinar en cuantos de ellos estaba involucrado el microorganismo. Del total de muestras que se enviaron al laboratorio, se detectaron presuntos aislados de *S. aureus* en 74 de las muestras analizadas, de las cuales se confirmaron 73 por PCR, es decir, el 10,5% de los alimentos presentados entre 2007 y 2010 estaban contaminados con este microorganismo. No obstante, de las 73 muestras positivas, 43 de ellas (59%) estaban también contaminadas con al menos otro organismo más: 38 muestras positivas para *Bacillus cereus*, 5 para *Clostridium perfringens*, 4 para *Aeromonas*

spp. y 2 para *Yersinia enterocolitica*. Respecto al tipo de alimentos que incluían las muestras contaminadas encontramos que 29 de ellas eran de carne o productos cárnicos, 20 eran alimentos preparados que contenían algo de carne, 11 alimentos preparados sin carne, 10 productos lácteos y 3 productos agrícolas (frutas o verduras). Ninguna de las muestras positivas de *S. aureus* pertenecía a una cepa SARM.

No obstante, no se puede excluir las cepas resistentes como motivo de preocupación ya que, aunque ninguna muestra fue positiva para SARM, los autores indicaron la creciente preocupación que supone la posibilidad de que SARM sea un patógeno causante de enfermedades transmitidas por los alimentos y su posible impacto en la salud humana. Además, también hicieron notar como hemos apuntado en párrafos anteriores que las intoxicaciones alimentarias a menudo no se informan correctamente ni se muestrean con lo que cabe la posibilidad de que el SARM en alimentos y su implicación este infraestimado.

China también ha reportado en diversos informes la presencia de SARM en diversos tipos de alimentos de comercios de venta al público. En este país, se estima que aproximadamente entre el 20 y el 25% de los brotes de intoxicaciones alimentarias causadas por bacterias son causados por *S. aureus*. Se realizó un análisis de un total de 1581 aislamientos de *S. aureus* (Wu et al., 2019), de los cuales 108 eran aislamientos SARM y 1473 correspondían a SASM, recolectados de muestras de alimentos de 39 ciudades chinas. Estos aislados pertenecían a muestras de carne y productos cárnicos (469), productos de pescado y marisco (511), productos procesados congelados (368), alimentos listos para el consumo (148), leche pasteurizada (13), vegetales (30) y setas comestibles (42). En este estudio fue significativa la presencia positiva del gen de la PVL en 72 de los aislados (4,6%) y dentro de este grupo, 26 eran cepas de SARM y 46 de SASM. Además, entre los aislados positivos para PVL, cada uno albergaba al menos uno de los genes productores de enterotoxinas. No hubo diferencias significativas entre SARM y SASM en términos de la mayoría de los genes de enterotoxina detectados.

Este caso informado en China de presencia conjunta de genes productores de varios tipos de toxinas remarca la existencia de otros potenciales peligros asociados a la diseminación de SARM, por la gran variedad de factores de virulencia que pueden presentar sus cepas. En este caso, la leucocidina de Pantón-Valentine que normalmente está asociada a otro tipo de contagios intracomunidad fue hallada en muestras de alimentos de venta al por menor que además poseían genes productores de enterotoxinas.

#### 4. Riesgo alimentario asociado a SARM

Comer y manipular alimentos contaminados supone un potencial vehículo de transmisión en la cadena alimentaria ya que, como hemos visto en el estudio de la prevalencia y epidemiología del organismo, los alimentos pueden estar contaminados por SARM (incluido el CC398) de varias formas, bien sea por la asociación del microorganismo con el ganado o por transmisión humana al alimento. Cuando la prevalencia de CC398 es alta en explotaciones de animales para consumo humano, las personas en contacto directo con estos animales (esto es, los ganaderos y veterinarios, y sus familias) corren un mayor riesgo de infección y posible transmisión de esta cepa. No obstante, el potencial de que estos individuos que pueden portar la cepa CC398 contribuyan a la propagación de SARM en los hospitales parece ser menor que el de las propias cepas de SARM-AH. (EFSA, 2009b)

Tal y como se ha evidenciado en muchos países, se puede considerar la posibilidad de que un porcentaje de las intoxicaciones alimentarias por enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* que se producen en el mundo sean debidas a cepas de SARM, ya que la prevalencia del microorganismo estudiada en el contexto de la cadena alimentaria podría no estar suficientemente documentada, debida a la falta de datos y de estudio de las intoxicaciones reportadas. Muchos estudios informan y no dejan lugar a duda de que un pequeño número de muestras de alimentos se contaminan con cepas de SARM, concretamente en la mayoría de casos por el complejo clonal de SARM-AG más comúnmente asociado a ganado (CC398). Por otro lado, existen muy pocos reportes de alimentos involucrados en brotes de intoxicación alimentaria analizados que sean debidos a SARM-AG productor de enterotoxinas. En este punto se debe matizar y diferenciar que la presencia de contaminación por cepas de SARM-AG en muestras de alimentos no supone necesariamente que estas cepas posean genes productores de enterotoxinas y que sean las causantes de intoxicaciones alimentarias, si bien pueden llevar o no además otros genes asociados a la producción de otras toxinas propias de la especie (hemolisinas, PVL,...).

Además, debemos tener en cuenta que muchos aislamientos de *S. aureus* que se realizan en muestras de alimentos para la investigación de brotes no son analizados respecto a la susceptibilidad o resistencia a antibióticos, debido además a que en muchos casos el tratamiento no incluye este tipo de fármacos. Como tal, es razonable que un brote de intoxicación alimentaria causado por cepas de SARM pueda pasar desapercibido, y esto dificulta también el proceso de estimación de riesgo del microorganismo. Existe un número bajo de reportes científicos que estudian este riesgo asociado a la transmisión de cepas de SARM, ya

que también son muy pocos los brotes de intoxicación por toxina estafilocócica que se ponen en estudio. Esto hace que resulte complicado establecer cuántas de las intoxicaciones son realmente causadas por cepas de SARM y su relación con las cepas asociadas al ganado.

La evidencia de la creciente prevalencia de SARM-AG en muestras de alimentos de todo el mundo se puede considerar suficiente para afirmar que el riesgo de diseminación es elevado y que supone un riesgo emergente para la seguridad alimentaria y la Salud Pública, además del problema asociado de diseminación y desarrollo de nuevas resistencias antimicrobianas. También, existen rutas de propagación del microorganismo que no están lo suficientemente atendidas actualmente como son los mercados negros y el tráfico ilegal de alimentos, que suponen un reto para los organismos encargados de proteger al consumidor. No podemos dejar de lado tampoco el riesgo añadido que encontramos en los trabajadores de granjas de producción con animales positivos a alguna cepa de SARM-AG, que tienen mayores posibilidades de contraer el patógeno y, por consiguiente, de diseminación del mismo. Sobretudo resulta preocupante en aquellas explotaciones con un número elevado de animales ya que esto está asociado normalmente con alta prevalencia de SARM asociado al ganado. Estas personas suponen un importante foco de transmisión de estas cepas ya que el humano actúa como reservorio y se pueden producir contagios y propagación de estas cepas en la comunidad e incluso llegar a la cadena alimentaria y/o a los alimentos de este modo.

En este punto se puede concluir que actualmente sí existe riesgo de propagación de cepas SARM a la cadena alimentaria ya que las cepas asociadas al ganado y concretamente la cepa CC398 muestran una alta prevalencia en productos alimenticios, sobre todo, de origen animal.

## 5. Gestión del riesgo de SARM en la cadena alimentaria

La gestión del riesgo se puede definir como el proceso de ponderar las distintas opciones legislativas y normativas que se pueden adoptar en base a los resultados que arroja la evaluación del riesgo previa, y también incluye la selección de las medidas necesarias y apropiadas para prevenir, reducir o eliminar el riesgo que supone, en este caso el SARM, dentro de la cadena alimentaria.

A la hora de adoptar las decisiones relativas a esta gestión, los organismos encargados deben considerar, además de la evaluación científica hecha, otros factores relativos a la puesta en práctica. Estos pueden ser, por ejemplo, la posibilidad de controlar una situación de riesgo, las medidas y acciones más eficaces en función del punto en la cadena de producción donde se pueda presentar el peligro, cómo se pueden llevar a la práctica y de qué manera puede afectar socioeconómicamente. (AESAN, 2020)

Puesto que consideramos el SARM como un agente patógeno con un riesgo real en la cadena alimentaria, se deben implantar estrategias de gestión de dicho riesgo en toda la cadena de producción para evitar que se convierta en un potencial peligro en el futuro para la salud pública. Algunos investigadores como Basanisi et al. (2016) indican que es necesario monitorizar el estatus sanitario de los animales de producción para evitar un aumento de la prevalencia en las explotaciones de las cepas asociadas al ganado, que son las que se pueden considerar problemáticas por ser las que tienen más probabilidad de pasar a la industria alimentaria de los productos de origen animal. En todos los Estados miembros europeos, las agencias de control epidemiológico (ECDC), alimentario (EFSA) y medicamentoso (EMA) recomiendan la vigilancia y el seguimiento de SARM en seres humanos y animales productores de alimentos y, además, se debe también seguir trabajando desde los organismos superiores para armonizar los métodos de detección de SARM como contaminante de los alimentos (ECDC, EFSA y EMA, 2009).

Es importante también que la información acerca de medidas a implantar llegue a todas las escalas de la cadena de producción, incluido el consumidor. Por ello, muchos organismos y agencias de seguridad alimentaria tienen sus propios protocolos de gestión y control de *S. aureus* en la cadena alimentaria, que son extrapolables para las cepas de SARM. Por ejemplo, la Autoridad de Seguridad Alimentaria Irlandesa (FSAI, 2011) establece las siguientes recomendaciones:



- Evitar el uso de materias primas que puedan estar contaminadas con un alto número de *S. aureus* (aunque el organismo se puede eliminar en un proceso posterior, es posible que existan toxinas preformadas y es poco probable que se eliminen o destruyan).
- Asegurar que los manipuladores de alimentos sean conscientes de la importancia de las buenas prácticas de higiene, en particular el lavado de manos y la necesidad de informar sobre infecciones cutáneas para poder tomar las precauciones adecuadas.
- Implementar un sistema de gestión de seguridad alimentaria basado en los principios del plan APPCC.
- Realizar ensayos con criterios microbiológicos, según corresponda, al validar y verificar el correcto funcionamiento de sus procedimientos basados en APPCC y otras medidas de control de higiene.

En España, la Fundación Vasca para la Seguridad Alimentaria (ELIKA, 2019) ha establecido protocolos propios, algo más detallados, para prevenir y controlar el riesgo de *S. aureus*:

1. En la cadena alimentaria: En toda la cadena de producción, distribución y almacenamiento de alimentos, se deben aplicar buenas prácticas agrícolas (BPA) y buenas prácticas higiénicas (BPH) que contribuyen a reducir el número de *S. aureus*, así como un sistema de autocontrol basado en el Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico (APPCC). Durante la transformación de los alimentos, es importante cumplir con los criterios microbiológicos de las materias primas que puedan ser contaminadas con el microorganismo. Además, los fabricantes de alimentos crudos susceptibles de ser contaminados con *S. aureus* deben:
  - a. Mantener la cadena de frío (por debajo de 6°C) durante el transporte, almacenamiento y distribución de los alimentos para evitar el crecimiento de la bacteria.
  - b. Mantener los alimentos con pH inferior a 5 para evitar la formación de las enterotoxinas.
2. En el hogar: Las 5 claves de la OMS para seguir unas buenas prácticas de higiene y manipulación en la preparación y cocinado de los alimentos:
  - a. Usar agua y materias primas seguras
  - b. Lavar bien con agua las frutas y hortalizas que vayan a consumirse crudas.
  - c. Mantener los alimentos a temperaturas seguras: refrigerar los alimentos a temperaturas inferiores a 5°C para limitar el crecimiento potencial del

- microorganismo en alimentos susceptibles a la contaminación por dicha bacteria.
- d. Mantener la limpieza con la consiguiente desinfección de las superficies, utensilios y tablas para cortar.
  - e. Separar alimentos crudos y cocinados para evitar la contaminación cruzada.
3. Recomendaciones de las autoridades de referencia de Seguridad Alimentaria:
- a. Mantener la cadena de frío durante el transporte, especialmente de los alimentos crudos susceptibles de ser contaminados con *Staphylococcus*.
  - b. Cumplir las indicaciones de tiempo y temperaturas de conservación, así como la fecha de caducidad que figuran en el etiquetado de los alimentos.
  - c. No descongelar los alimentos a temperatura ambiente, sino en la parte baja del frigorífico.
4. Criterios legales: Las empresas alimentarias deben cumplir los criterios microbiológicos establecidos para las enterotoxinas estafilocócicas en los alimentos de mayor riesgo (leche y quesos) según el Reglamento 2073/2005 (CE) relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios y sus posteriores modificaciones, así como las medidas de higiene generales y específicas contempladas en el Reglamento 852/2004 (CE) relativo a la higiene de los productos alimenticios y sus posteriores modificaciones.

La ACSA (Gencat, 2019) también menciona los siguientes puntos:

1. La limpieza y desinfección de equipos y instalaciones ha de ser especialmente bien hecha por la fuerte adhesión de *S. aureus* a las superficies.
2. Tratamientos térmicos adecuados para obtener un alto nivel de descontaminación o prevenir la multiplicación conservando los alimentos por debajo de 6°C.
3. Cualquier proceso tecnológico de los alimentos en un rango de temperaturas peligrosas (10°C a 45°C) ha de hacerse en un tiempo breve o elegir otros tratamientos para detener el crecimiento de la bacteria, tal como un pH inferior a 5.
4. *Staphylococcus spp.* son termosensibles mientras que las enterotoxinas son termoestables. El recalentamiento de un producto contaminado por *S. aureus* no es una garantía de seguridad: el calor destruye las bacterias pero no las enterotoxinas si están presentes.

5. Respetar las buenas prácticas de higiene durante la manipulación y la preparación de los alimentos. Respetar la cadena de frío y refrigerar rápidamente los alimentos cocinados (máximo dos horas) si no se consumen de forma inmediata.

A pesar de estas recomendaciones generales, el SARM en comparación a otros agentes patógenos posee varias características únicas que hacen que requiera también la consideración de medidas diferentes para su control y gestión. Esto es debido a que, por una parte, la exposición e infección por SARM, fuera del contexto de las intoxicaciones alimentarias, no produce normalmente enfermedad en individuos sanos, aunque sí pueden ocurrir infecciones severas. Actualmente, la población de riesgo se encuentra sobretodo en hospitales y entornos de atención sanitaria, y dicho riesgo está relacionado con la introducción de cepas de SARM por otros individuos portadores. Estas cepas son mayoritariamente las cepas asociadas a hospitales, aunque mientras que las cepas asociadas al ganado pueden llegar también a estos entornos mediante contacto humano, hay indicios de que SARM-AG se propaga con menos eficacia en los hospitales que las propias cepas de SARM-AH. Sin embargo, y teniendo en cuenta la capacidad de la bacteria para evolucionar y adaptarse al ambiente, se debe considerar como similar el riesgo potencial de propagación de cualquier cepa de SARM.

Por otro lado, la transmisión de SARM por medio de los alimentos todavía no cuenta con la suficiente evidencia para justificar medidas de control específicas en los Estados miembros de la UE, aunque como hemos visto sí que existe un riesgo real que debe ser tenido en cuenta y establecer una monitorización del microorganismo y su prevalencia. Esta monitorización y vigilancia no son opciones de control del riesgo como tal, pero son elementos necesarios e imprescindibles para determinar estas estrategias y para evaluar si son efectivas o no, ya que existe cierta incertidumbre sobre la prevalencia real del patógeno y su curso futuro. Sin embargo, la complejidad del *S. aureus* a nivel epidemiológico complica su seguimiento y vigilancia, con lo que es necesaria la colaboración a todos los niveles (local, regional, nacional y europeo) y una correcta comunicación e información entre ellos. Además, una monitorización, vigilancia y control preventivo facilitarán, en el caso de que la incidencia de SARM siga en aumento, la implantación de medidas de control posteriores efectivas y menos costosas.

Con los datos actuales y el conocimiento que existe acerca del microorganismo, no se debe subestimar la posibilidad de que la cepa CC398 adquiera otros genes de resistencia adicionales, con el consiguiente desafío que implica a la hora de elegir un tratamiento antibiótico o incluso el peligro de transmisión a otros linajes genéticos. Los genes *mecA* de resistencia a meticilina

también pueden transferirse a otras cepas más adaptadas a los humanos, con lo que la problemática del SARM relativa también a la diseminación de las resistencias antimicrobianas es real y requiere también de estas medidas de control y vigilancia previas. El riesgo asociado a las cepas de SARM no está simplemente en la mera transmisión del patógeno entre la comunidad y que sea causa de infecciones en la población ya que los clones actuales de SARM-AG CC398 son menos epidémicos entre los humanos que otros pero no se puede negar la posibilidad de que en un futuro surjan a partir de ellos cepas más transmisibles y virulentas, incluida la posibilidad de que adquieran cepas de producción de enterotoxinas.

Así pues, la EFSA (2019) indicó que en todos los estados miembros, se debe realizar un seguimiento periódico de los animales de granja, especialmente los de tipo intensivo, para tener datos de tendencia del desarrollo de la epidemia de SARM-AG. El seguimiento de la intoxicación alimentaria por toxina estafilocócica se lleva a cabo en la UE tal y como se recoge en la Directiva 2003/99 sobre monitorización de zoonosis y agentes zoonóticos.

## 6. Comunicación del riesgo de SARM en la cadena alimentaria

Finalmente, la comunicación es la tercera fase que completa el análisis del riesgo. Sin embargo, este proceso no es estrictamente el último paso puesto que el intercambio interactivo de la información se lleva a cabo ya durante todo el proceso de evaluación y gestión de riesgos previa. Esta fase consiste principalmente en recopilar toda la información analizada por los evaluadores y los gestores de riesgo y compartir la información de manera clara y concisa con todas las partes implicadas, desde las empresas agroalimentarias, los consumidores, incluso la comunidad científica y académica, con el fin de que haya una total transparencia y se puedan comprender de manera clara los riesgos del peligro que estamos analizando, para así poder tomar también decisiones de calidad respecto a su gestión. Todos los interesados deben implicarse en prevenir, disminuir y/o eliminar al máximo dichos riesgos y para esto la información debe ser fluida y comprensible. Además, las motivaciones que establecen las medidas relativas a la gestión del riesgo han de ser transparentes, y dichas medidas deben poder transmitirse a todos los niveles y ser aplicadas de forma realista.

Actualmente, el riesgo de transmisión de SARM por vía alimentaria está todavía en el punto de mira y la evidencia no resulta suficiente para establecer medidas específicas de control a tener en cuenta en la cadena alimentaria. No obstante, las grandes organizaciones y agencias encargadas de regular, legislar y comunicar sobre seguridad alimentaria cuentan en sus páginas web con mucha información relativa al *Staphylococcus aureus*, que es la información que debemos aplicar y que nos puede resultar útil para prevenir posibles cepas de SARM enterotoxigénico en los alimentos.

Teniendo en cuenta que las cepas de SARM que nos incumben dentro del contexto de la transmisión alimentaria son principalmente las asociadas al ganado, las estrategias están enfocadas en su mayoría a la prevención en este ámbito. Es en este sector donde sobretodo debemos asegurar un buen flujo de información y comunicar la importancia de las buenas prácticas de higiene y de manejo que se deben aplicar para controlar la prevalencia de las cepas de SARM-AG. Además, también se debe hacer énfasis (sobretodo en el colectivo veterinario encargado de las explotaciones) en la importancia del control y el uso racional y controlado de los medicamentos antibióticos, ya que el desarrollo y diseminación de resistencias como hemos visto también es un riesgo añadido y potencial de estas cepas.

Los esfuerzos actualmente están enfocados en monitorizar la prevalencia de estas cepas e investigar si los brotes causados por intoxicación estafilocócica provienen de cepas resistentes enterotoxigénicas. El consumidor también debe estar informado de las medidas higiénicas

adecuadas para evitar la incidencia de intoxicaciones, aunque la comunicación a este respecto no discrepa entre cepas de *S. aureus*.

Existe legislación comunitaria de interés en la cadena de producción acerca de los niveles máximos permitidos de *Staphylococcus aureus* en determinados productos alimenticios (Reglamento 2073/2005), además de la normativa específica de la UE para monitorizar la incidencia del microorganismo y su avance (Directiva 2003/99). Como potencial riesgo para la Salud Pública futura, las medidas de vigilancia impuestas legislativamente están justificadas para controlar la prevalencia del microorganismo en alimentos y en animales de producción.

## Conclusiones

En base a toda la revisión bibliográfica que se ha llevado a cabo para realizar este análisis de riesgo, y en consecuencia a los objetivos inicialmente establecidos, se pueden extraer las siguientes conclusiones respecto al SARM dentro de la cadena alimentaria:

1. Se puede observar que existen alrededor de todo el mundo estudios donde se ha aislado el microorganismo, la mayoría de veces siendo cepas de SARM-AG, en productos cárnicos de venta al público, especialmente de carne de porcino pero también carne de bovino y de ave, y también en otro tipo de alimentos. No obstante, el número de cepas enterotoxigénicas entre los aislados de este tipo fue, en general, muy bajo. Existe muy poca evidencia de intoxicaciones estafilocócicas reportadas debidas a dichas cepas de SARM enterotoxigénico.
2. Respecto a la prevalencia en los animales, el SARM-AG CC398 se ha evidenciado con solidez como patógeno presente en muchas explotaciones, sobretodo de ganado porcino.
3. Es también notable que la incidencia de las resistencias antibióticas del microorganismo es cada vez mayor por su capacidad de adaptación y que, contra más aumente la prevalencia de SARM, más se diseminarán dichas resistencias. Además, si la prevalencia de SARM-AG aumentase dentro de la cadena alimentaria, también podrían aumentar las posibilidades de cruces con cepas de SARM-AC y SARM-AH, pudiendo causar la aparición de nuevas cepas posiblemente más transmisibles y/o virulentas. Es decir, la mayor problemática de SARM actualmente podría estar más relacionada con la inducción y extensión de resistencias a otras cepas, más que con la posibilidad de que produzcan intoxicaciones estafilocócicas.
4. Los estudios existentes acerca del SARM en los alimentos son escasos y relativamente recientes, con lo que se deduce la posibilidad de que los datos estudiados estén infravalorados. Tampoco existen datos suficientemente amplios y sólidos para conocer la prevalencia de cepas de SARM enterotoxigénicas, puesto que muchas veces no se estudian en conjunto ambos factores (la resistencia antimicrobiana y los factores de virulencia de las cepas).

## Conclusions

Based on all the bibliographic review that has been carried out to implement this risk assessment, and consequently to the previous established objectives, the following conclusions can be drawn regarding MRSA within the food chain:

1. It can be observed that there are researches around the world where the microorganism has been isolated, specifically the strains corresponding to the MRSA associated to livestock, in meat retail products, especially from pork but also beef and poultry meat, and in other types of foods as well. However, the number of enterotoxigenic strains among all the isolates was generally very low. There is very little evidence of reported staphylococcal poisoning due to that enterotoxigenic MRSA strains.
2. Regarding the prevalence in animals, MRSA-LA CC398 has been solidly reported as a present pathogen in many holdings, especially in pig farms.
3. It is also remarkable that the incidence of antimicrobial resistance in the microorganism is increasing due to its ability to adapt and as the prevalence of MRSA keeps increasing, the resistance will continue expanding. Furthermore, if the prevalence of MRSA-LA increases within the food chain, it could boost the chances of crosses with MRSA community associated and MRSA hospital acquired strains and may cause the appearance of new strains that could be more transmissible and/or virulent than the existent ones. That is, nowadays the greatest problem of MRSA could be more related to the induction and extension of antimicrobial resistances to other strains rather than the possibility of causing staphylococcal poisoning.
4. Existing studies about MRSA in food are limited and relatively recent, so it suggests the possibility that the data could be underestimated. Neither of the data are sufficiently broad and solid to know the prevalence of enterotoxigenic MRSA strains, since both of the two factors (resistance and virulence) are often not studied together.



## Valoración personal

Este trabajo ha supuesto para mí un gran aprendizaje en relación a la seguridad alimentaria, puesto que ha sido una gran oportunidad para profundizar en el tema y especialmente en la herramienta del análisis de riesgos asociado a la cadena alimentaria. Me ha proporcionado mucha soltura a la hora de leer e interpretar artículos y estudios científicos en inglés, ya que este trabajo estaba basado en la revisión bibliográfica de la información actual existente y es el idioma predeterminado que se usa en el ámbito científico. También me ha hecho expresar mi capacidad de análisis y el hecho de desarrollar mis propias conclusiones en base a toda la información que había consultado. Todo esto me ha resultado muy enriquecedor, ya que creo que supone una síntesis del esfuerzo y el empeño puesto en comprender el tema sobre el que he trabajado.

Así pues, puedo afirmar que estoy muy satisfecha de haber escogido esta temática para mi trabajo de fin de grado puesto que los veterinarios somos de gran importancia en el sector agroalimentario y tenemos un papel fundamental en la protección de la Salud Pública.

Por último, debo concluir esta valoración agradeciendo la ayuda de mis tutores a la hora de corregirme y orientarme con las dudas, y también por transmitirme con cada corrección la importancia de que el trabajo esté bien hecho.

## Bibliografía

1. Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (ACSA) (2019a). *Staphylococcus aureus*. Disponible en: <http://acsa.gencat.cat/es/detall/article/Staphylococcus-aureus> [Consultado: 22/04/2020].
2. Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (ACSA) (2019b). *Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM)*. Disponible en: <http://acsa.gencat.cat/es/detall/article/Staphylococcus-aureus-resistent-a-la-meticillina-SARM> [Consultado: 22/04/2020].
3. Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria (ACSA), Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) (2019). *Mapa de peligros alimentarios: Staphylococcus aureus*. Disponible en: [http://acsa.gencat.cat/web/.content/\\_A\\_Z/S/informacio-relacionada/Staphylococcus\\_ES\\_MP.pdf](http://acsa.gencat.cat/web/.content/_A_Z/S/informacio-relacionada/Staphylococcus_ES_MP.pdf) [Consultado: 22/04/2020].
4. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) (2020). *Gestión de Riesgos*. Disponible en: [http://www.aecosan.mssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad\\_alimentaria/seccion/gestion\\_riesgos.htm](http://www.aecosan.mssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/seccion/gestion_riesgos.htm) [Consultado: 25/08/2020].
5. Basanisi, M. G., La Bella, G., Nobili, G., Franconieri, I., La Salandra, G. (2017). "Genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from milk and dairy products in South Italy". *Food microbiology*, 62, pp. 141-146. DOI:10.1016/j.fm.2016.10.020.
6. Camoez, M., Sierra, J. M., Pujol, M., Hornero, A., Martín, R., & Domínguez, M. A. (2013). "Prevalence and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 resistant to tetracycline at a Spanish hospital over 12 years". *PloS one*, 8(9). DOI: 10.1371/journal.pone.0072828.

7. Castellano González, M. J., Perozo-Mena, A. J. (2010). "Mecanismos de resistencia a antibióticos  $\beta$ -lactámicos en *Staphylococcus aureus*", *Kasmera*, 38(1) pp. 18-35. Disponible en:  
[https://www.researchgate.net/publication/262650065\\_Mecanismos\\_de\\_resistencia\\_a\\_antibioticos\\_B-lactamicos\\_en\\_Staphylococcus\\_aureus](https://www.researchgate.net/publication/262650065_Mecanismos_de_resistencia_a_antibioticos_B-lactamicos_en_Staphylococcus_aureus) [Consultado: 31/08/2020].
8. Ceballos Marcaida, S. (2018). *Cepas clínicas de SARM de líneas genéticas asociadas a animales: epidemiología, genómica, proteómica y nuevos antimicrobianos*. Tesis doctoral. Universidad de La Rioja.
9. Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN), Food and Drug Administration (FDA), U.S. Department of Health and Human Services (HHS) (2012). *Bad Bug Book: Handbook of Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins* (2ª ed). Silver Spring: US Food and Drug Administration, pp. 87–92.
10. Cervantes-García, E., García-González, R., Salazar-Schettino, P.M. (2014). "Características generales del *Staphylococcus aureus*", *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(1), pp. 28-40. Disponible en:  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf> [Consultado: 19/07/2020].
11. Crago, B., Ferrato, C., Drews, S. J., Svenson, L. W., Tyrrell, G., Louie, M. (2012). "Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) in food samples associated with foodborne illness in Alberta, Canada from 2007 to 2010". *Food Microbiology*, 32, pp. 202-205. DOI:10.1016/j.fm.2012.04.012.
12. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA), European Medicines Agency (EMA) (2009). *Joint scientific report: Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in livestock, companion animals and food*. EFSA Scientific Report 2009. DOI:10.2903/j.efsa.2009.301r.
13. European Commission (EC) (2010). *Food Hygiene*. Disponible en:  
[https://ec.europa.eu/food/safety/biosafety/food\\_hygiene\\_en](https://ec.europa.eu/food/safety/biosafety/food_hygiene_en) [Consultado: 24/07/2020].

14. European Food Safety Authority (EFSA) (2009). *Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards on a request from the European Commission on Assessment of the Public Health significance of meticillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in animals and foods*. EFSA Journal 2009; 993, 1-73. DOI:10.2903/j.efsa.2009.993.
15. European Food Safety Authority (EFSA) (2009a). *Scientific topic: Meticillin-resistant Staphylococcus aureus*. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/meticillin-resistant-staphylococcus-aureus-mrsa>. [Consultado: 22/04/2020].
16. European Food Safety Authority (EFSA) (2009b). *News: EFSA evaluates risk of MRSA in food and animals*. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/090327> [Consultado: 02/09/2020].
17. European Food Safety Authority (EFSA) (2019). *Scientific topic: Foodborne zoonotic diseases*. Disponible en: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/foodborne-zoonotic-diseases> [Consultado 02/09/2020].
18. Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) (2013). *Staphylococcus aureus*. Disponible en: <https://www.foodstandards.gov.au/publications/Documents/Staphylococcus%20aureus.pdf> [Consultado: 22/04/2020].
19. Food Safety Authority of Ireland (FSAI) (2011). *Staphylococcus aureus*. Microbial Factsheet Series.
20. Fox, A., Pichon, B., Wilkinson, H., Doumith, M., Hill, R. L., McLauchlin, J., Kearns, A. M. (2017). "Detection and molecular characterization of Livestock-Associated MRSA in raw meat on retail sale in North West England", *Letters in Applied Microbiology*, 64(3), pp. 239-245. DOI:10.1111/lam.12709
21. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria (ELIKA) (2019). *Staphylococcus aureus*. Disponible en: <https://seguridadalimentaria.elika.eus/staphylococcus-aureus/#quees> [Consultado: 02/09/2020].

22. Gómez Villaescusa, P. (2018). *Staphylococcus aureus en animales de vida libre y medioambiente. Resistencia a antimicrobianos, virulencia, líneas genéticas circulantes y genómica comparativa*. Tesis doctoral. Universidad de La Rioja.
23. Kadariya, J, Smith, T.C., Thapaliya, D. (2014). "Staphylococcus aureus and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health", *BioMed Research International*, vol. 2014. DOI:10.115/2014/827965.
24. Mama, O. M., Morales, L., Ruiz-Ripa, L., Zarazaga, M., Torres, C. (2020). "High prevalence of multidrug resistant *S. aureus*-CC398 and frequent detection of enterotoxin genes among non-CC398 *S. aureus* from pig-derived food in Spain". *International Journal of Food Microbiology*, 320 (2020). DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108510.
25. Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Pfaller, M. A. (2014) *Staphylococcus y cocos grampositivos relacionados* (8º ed.). Barcelona: Elsevier.
26. Normanno, G., Spinelli, E., Barlaam, A., Parisi, A., Tinelli, A., Capozzi, L., (2019). "Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Food of Animal Origin: A New Challenge in Food Safety?", *EC Microbiology*, 15(6), pp. 449-454.
27. Oniciuc, E. A., Ariza-Miguel, J., Bolocan, A., Diez-Valcarce, M., Rovira, J., Hernández, M., Fernández-Natal, I., Nicolau, A. I., Rodríguez-Lázaro, D. (2014). "Foods from black market at EU border as a neglected route of potential methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* transmission". *International Journal of Food Microbiology*, 209, pp. 34-38. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.015.
28. Pantosti, A. (2012). "Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health". *Frontiers in Microbiology*, 3, 127. DOI:10.3389/fmicb.2012.00127.
29. Pereira, V., Lopes, C., Castro, A., Silva, J., Gibbs, P., Teixeira, P. (2009). "Characterization for enterotoxin production, virulence factors, and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolates from various foods in Portugal". *Food microbiology*, 26(3), pp. 278-282. DOI:10.1016/j.fm.2008.12.008.

30. Quijada, N. M., Hernández, M., Oniciuc, E. A., Eiros, J. M., Fernández-Natal, I., Wagner, M., Rodríguez-Lázaro, D. (2019). "Oxacillin-susceptible *mecA*-positive *Staphylococcus aureus* associated with processed food in Europe". *Food Microbiology*, 82, pp. 107-110. DOI:10.1016/j.fm.2019.01.021.
31. Reynaga Sosa, E. A. (2019). *Prevalencia de Staphylococcus aureus resistente a meticilina CC398 en un área con una alta densidad de granjas de cerdos*. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona.
32. Sergelidis, D., Angelidis, A.S. (2017). "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen", *Letters in Applied Microbiology*, 64(6), pp. 409-418. DOI:10.1111/lam.12735..
33. Traversa, A., Gariano, G. R., Gallina, S., Bianchi, D. M., Orusa, R., Domenis, L., Cavallerio, P., Fossati, L., Serra, R., Decastelli, L. (2015). "Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from food and wild animal carcasses in Italy". *Food microbiology*, 52, pp. 154-158. DOI:10.1016/j.fm.2015.07.012.
34. Wu, S., Zhang, F., Huang, J., Wu, Q., Zhang, J., Dai, J., Zeng, H., Yang, X., Chen, M., Pang, R., Lei, T., Zhang, Y., Xue, L., Wang, J., Ding, Y. (2019). "Phenotypic and genotypic characterization of PVL-positive *Staphylococcus aureus* isolated from retail foods in China". *International Journal of Food Microbiology*, 304, pp. 119-126. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2019.05.021.