



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

**Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente
a meticilina CC398 en un área con una alta
densidad de granjas de cerdos**

Tesis Doctoral

ESTEBAN ALBERTO REYNAGA SOSA



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Medicina

Año 2017

**Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente
a meticilina CC398 en un área con una alta
densidad de granjas de cerdos**

Tesis doctoral defendida por

ESTEBAN ALBERTO REYNAGA SOSA

Para aspirar al Grado de Doctor

Director:

Dr. Miquel Sabrià Leal

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

Programa de Doctorat en Medicina

Departament de Medicina

Año 2017

AGRADECIMIENTOS

Resulta imposible el estar escribiendo estas palabras sin recordarme de todos los momentos vividos y por las diferentes etapas que tuve desde que decidí comenzar a curiosear en el ámbito de la investigación y plantearme hacer la tesis. No fue nada fácil ya que algunas personas no supieron entender la investigación que proponía y esto complicó bastante el camino. Pero por suerte la gran mayoría de las personas que conformamos este equipo no bajamos los brazos. A principios de iniciar la tesis delante de mi ordenador colgué una foto con una frase “EL QUE AFLOJA PIERDE”, frase anónima de un barrio de Argentina y que cada vez que los resultados no salían o teníamos algún problema añadido la miraba y continuaba, gracias!!. Ha sido muy difícil pero lo hemos conseguido y esta victoria no hubiera sido posible si no hubiera contado con todo el equipo que hizo realidad algo casi imposible.

En primer lugar quisiera agradecer al servicio de Medicina Interna del Hospital de Vic, especialmente al Joan Brugués y al Gianni Lucchetti, por el apoyo incondicional y por creer en el proyecto desde sus inicios. Gracias a las microbiólogas del Hospital de Vic, Marian Navarro y Anna Vilamala y a todo el personal del laboratorio, por saber entender el proyecto, por la colaboración, la incondicionalidad y por las ganas de seguir investigando a pesar de las dificultades y los inconvenientes que sufre actualmente nuestro laboratorio.

Gracias a los Epidemiólogos del Hospital de Vic, Pere Roura, Jacint Altimiras y Emma Puigoriol por ayudarme a entender tantos números y darle la vuelta a las cosas para que los resultados tengan sus frutos.

Gracias Marian García Nuñez, por ser la responsable de que toda la biología molecular salga adelante y enseñarme a entender un poquito todo el proceso de tipado molecular que al principio de la tesis me parecía algo indescifrable y que ahora por lo menos puedo entenderlo.

No puedo dejar de agradecer al Raül Figueras (Veterinario), que desde el primer día que nos conocimos me ayudó tanto en las muestras nasales de los cerdos, como con los granjeros. Gracias a los granjeros de la Comarca de Osona, por haberme dejado entrar en sus granjas y por querer participar del estudio.

Gracias Helen por ayudarme en las traducciones sea la hora que sea y el día que sea, seguro que a esta altura de la tesis tú también eres una experta en el tema.

Gracias Carmen Torres de la Universidad de la Rioja, porque desde el primer día que tuve la suerte de enviarte un mail preguntándote si podías leer mi manuscrito, recibí más, mucho más de lo que me esperaba y creo que gran parte de esas ganas e inquietud por saber, la he aprendido de tí. Gracias porque desde el primer día desinteresadamente leíste mis manuscritos, los modificaste y le diste tu toque de excelencia, muchas muchas gracias!

Realmente cuando tengo que hablar del Miquel Sabrià no tengo más que palabras de agradecimientos, desde el primer día que me presenté al Hospital de Can Ruti hace ya unos cuantos años, siempre me has ayudado en todos los aspectos tanto profesional como personal. Gracias por entender que hay que premiar las ideas y por un "SI" siempre que se trate de investigar. Es para mí un honor que seas el director de mi tesis y si en algún momento te dije que eras como un padre para mí, lo sigo reafirmando, muchas gracias!

Gracias a mis amigos del alma esos que compartís penas y glorias, esos que están a tu lado en todo momento y aunque entiendan o no de lo que les estás hablando, siempre me acompañan, gracias Jose, Guido, Miquel, Ezequiel, Coya y Mocho.

Gracias Carlitos y Margot, por creer siempre en mí, por haberme enseñado el valor de las cosas, por haberme apoyado siempre a pesar de mis errores, por llamarme y estar presente, gracias por ser mis padres.

Gracias Lucía y Diego por ser los mejores hermanos que se puede tener, si volviera a nacer y pudiera elegir, los elegiría sin dudarlo, porque forman parte de mí y porque la unión siempre hace la fuerza y nosotros estamos más que unidos.

Gracias Mami, por haberme enseñado tantas cosas, porque a pesar de que nos quitaron el privilegio de tenerte, no nos pudieron impedir el saber de vos, el conocerte y compartir el entusiasmo que tenías a la hora de hacer tu trabajo, creo que gran parte de mi "cabezonería" te la debo a vos.

Finalmente gracias a esta hermosa familia que tenemos Àngels, Júlia y desde hace muy pocos días el Marçal, porque son mi vida, el motor de cada día y hacen que cada día sea mágico. Gracias por estar siempre, por la incondicionalidad, la paciencia y la espera.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	14
LISTA DE FIGURAS Y TABLAS	18
RESUMEN	22
INTRODUCCIÓN	
1.1 Características Microbiológicas de <i>Staphylococcus aureus</i> Aspectos generales	28
1.2 HISTORIA Y PATOGENESIS DEL SARM	30
1.3 PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA DE <i>S aureus</i>	32
1.3.1 Estructura Bacteriana	32
Pared bacteriana	32
Enzimas extracelulares.	32
Toxinas	33
1.3.2 Evasión del sistema inmune Humano por parte de <i>S aureus</i>	35
2. Epidemiología molecular y TIPADO MOLECULAR de <i>S. aureus</i>	36
2.1 Tipado Molecular	36
2.1.1 Tipado mediante electroforesis en gel de campo pulsante (PFGE)	37
2.1.2 Tipado del Cassette cromosómico SCCmec	37
2.1.3 Tipado por Multi-Locus-Sequence-Typing (MLST)	39
2.1.4 Tipado de la región polimórfica del gen <i>-spa-</i>	39
3. COLONIZACIÓN O ESTADO DE PORTADOR <i>S aureus</i> .	40
4. MANIFESTACIONES CLÍNICAS e INFECCIONES POR <i>S aureus</i>	41
4.1 Infecciones de Piel - Partes Blandas	42
4.2 Infecciones Invasivas	46
5. EPIDEMIOLOGÍA DE SARM. CLASIFICACIÓN DEL SARM SEGÚN EL LUGAR DE ADQUISICIÓN Y LÍNEAS GENÉTICAS RELACIONADAS	50
5.1 SARM asociado al hospital (nosocomiales) SARM-AH:	51
5.1.2 SARM asociado con la asistencia sanitaria	52

5.2 SARM asociado a la comunidad (SARM-AC):	54
5.2.1 Propagación de SARM-AC en hospitales	54
5.3 SARM asociadas al ganado (SARM-AG):	56
5.3.1 SARM-AG y <i>mecC</i>	57
5.3.2 SARM-AG (SARM CC398)	59
6. COLONIZACIÓN Y TRANSMISIÓN DE SARM CC398	61
6.1 Transmisión del SARM-CC398 de animales al humano	61
6.2 Transmisión de humano a humano por SARM CC398	62
6.3 Características de los pacientes hospitalizados colonizados por SARM CC398	63
6.4 Infecciones por SARM CC398	63
6.5 SARM CC398 y síndromes estafilocócicos mediados por toxinas	64
7. TIPOS DE EXPLOTACIONES PORCINAS	65
8. COMARCA DE OSONA	67
8.1 Características de la Comarca y singularidades	67
8.2 Explotación porcina en España y Catalunya	67
OBJETIVOS	72
MATERIAL Y MÉTODOS	
1. Objetivo 1. Estudio de SARM ST398 en trabajadores de granjas de cerdos y en cerdos en la Comarca de Osona.	
1.1 Selección de Granjas, trabajadores y cerdos	77
1.2 Trabajadores Participantes	77
1.3 Cerdos y granjas	78
1.4 Recolección y procesamiento de muestras	79
1.5 Aislamiento y caracterización de SARM	79
1.6 Tipado molecular mediante MLST	80
1.7 Tipado de la región polimórfica del gen <i>spa</i>	80
1.8 Análisis estadístico de los datos	80

2.	Objetivo 2. Estudio de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con SARM-Tet ^R y SARM-Tet ^S en el Hospital Universitari de Vic (Barcelona)	
2.1	Selección de los Pacientes	82
2.2	Procesamiento de las muestras	83
2.3	Aislamiento y caracterización de SARM	83
2.4	Tipado molecular	84
2.5	Análisis estadístico de los datos	84
3.	Objetivo 3. Estudio de Prevalencia de SARM y SARM-Tet ^R especialmente SARM CC398 en residencias de ancianos de la Comarca de Osona	
3.1	Selección de las personas para el estudio	85
3.2	Procesamiento de las muestras	85
3.3	Aislamiento y caracterización de SARM	86
3.4	Tipado molecular	86
3.5	Análisis estadístico de los datos	87

RESULTADOS

1.	Objetivo 1. Estudio de SARM ST398 en trabajadores de granjas de cerdos y en cerdos en la Comarca de Osona.	
1.1	Prevalencia en los trabajadores de granjas de cerdos y características epidemiológicas	90
1.2	Prevalencia en cerdos y correlación con aislamientos de granjeros	92
2.	Objetivo 2. Estudio de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con SARM-Tet ^R y SARM-Tet ^S en el Hospital Universitari de Vic	
2.1	Diferencias Clínicas y Epidemiológicas entre SARM-Tet ^R y SARM-Tet ^S	95
2.2	SARM-Tet ^R : características clínica clínicas, epidemiológicas y diferencias entre las cepas CC398 vs no-CC398	98
2.3	Colonización / Infección	99
2.4	Fenotipo de resistencia a los antibióticos no β -lactámicos	100

3.	Objetivo 3. Estudio de Prevalencia de SARM y SARM-Tet ^R especialmente SARM CC398 en residencias de ancianos de la Comarca de Osona	
3.1	Diferencias clínicas y epidemiológicas entre residentes colonizados por SARM y no colonizados	102
3.2	Diferencias clínicas y epidemiológicas entre residentes colonizados por SARM Tet ^R y SARM Tet ^S	102
DISCUSIÓN		
	Objetivo 1. Estudio de SARM ST398 en trabajadores de granjas de cerdos y en cerdos en la Comarca de Osona.	108
	Objetivo 2. Estudio de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con SARM-Tet ^R y SARM-Tet ^S en el Hospital Universitari de Vic.	111
	Objetivo 3. Estudio de Prevalencia de SARM y SARM-Tet ^R especialmente SARM CC398 en residencias de ancianos de la Comarca de Osona.	114
	CONCLUSIONES	116
	FUTURAS INVESTIGACIONES	120
	BIBLIOGRAFÍA	124
	ANEXOS	141

ABREVIATURAS

AI	Acné Inversa
AFLP	Ampliació del Fragmento de Longitud Polimórfica
CIP	ciprofloxacina
CLI	clindamicina
CLSI	<i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>
CINa	Cloruro de sodio
CMI	Concentració Míxima Inhibitoria
DAP	daptomicina
DE	Desviación Estándar
EI	Endocarditis Infecciosa
ERY	eritromicina
ETA	<i>Exfoliative toxin A</i>
ETB	<i>Exfoliative toxin B</i>
FOS	fosfomicina
FUS	ácido fusídico
GC	Granjeros de Cerdos
GEN	gentamicina
HS	Hidradenitis Supurativa
HUV	Hospital Universitari de Vic
IDesCat	Institut d'Estadística de Catalunya
ILQ	Infecciones del Lecho Quirúrgico
IGTIP	Institut de Investigació Germans Trias i Pujol
IPA	Infección Protésica Articular
Km²	Kilómetro cuadrado
LA-MRSA	<i>Livestock Associated-MRSA</i>
LEV	levofloxacina
LIN	linezolid
LPV	Leucocidina de Pantón-Valentine
MLST	<i>Multilocus sequence typing</i>
MRSA	<i>Methicilin resistant Staphylococcus aureus</i>
MSCRAMMs	<i>Microbial Surface Components Recognising Adhesive Matrix Molecules</i>
MUP	mupirocina
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PFGE	electroforesis en gel de campo pulsado
ORs	Odds Ratios
RIF	rifampicina
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible a metilina
SARM-AC	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina asociado a la Comunidad
SARM-AH	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilina asociado al Hospital

SARM-AG	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina asociado al Ganado
SCC	cassette cromosómico estafilocócico
SXT	trimetoprim-sulfametoxazol
ST	<i>sequence type</i>
TEI	teicoplanina
TIG	tigeciclina
TOB	tobramicina
TSST-1	Toxina-1 del síndrome de shock tóxico
UE	Unión Europea
VAN	vancomicina
WGST	<i>Whole Genome Sequencing</i>

LISTA DE FIGURAS Y TABLAS

Lista de figuras

- Figura 1A.** Morfología de *S. aureus* en forma de racimos.
- Figura 1B.** Test de la coagulasa.
- Figura 1C.** Agar Sangre.
- Figura 1D.** Agar cromógeno MRSA-Brilliance.
- Figura 2.** Estructura de *S. aureus*.
- Figura 3.** Principales sistemas de evasión inmune de *S. aureus*.
- Figura 4.** Estructura de SCCmec.
- Figura 5.** Prevalencia de colonización en los diferentes sitios del cuerpo humano.
- Figura 6.** Porcentaje (%) de aislamientos invasivos con resistencia a la meticilina (SARM), por países de la UE, 2015.
- Figura 7.** Líneas genéticas de SARM-AH mayoritarias a nivel mundial.
- Figura 8.** Líneas genéticas de SARM-AC mayoritarias a nivel mundial.
- Figura 9.** Líneas genéticas de SARM-AG mayoritarias a nivel mundial.
- Figura 10.** Complejos clonales y STs más prevalentes asociados a animales y sus especies hospedantes.
- Figura 11.** Ciclo de SARM-AG.
- Figura 12.** Localización de Catalunya dentro de España, así como la Comarca de Osona dentro de Catalunya.
- Figura 13.** Evolución del censo porcino en la UE.
- Figura 14.** Distribución del censo total por comunidades autónomas.
- Figura 15.** Densidad de cerdos por Km² y comunidad autónoma.
- Figura 16.** Número de Explotaciones porcinas por comarcas, 2015.
- Figura 17.** Plazas porcinas por comarcas, 2015.
- Figura 18.** Comarca de Osona. Número de cerdos por municipio y granjas analizadas.
- Figura 19.** Relación entre granjeros colonizados por SARM ST398 y el número de cerdos por granjas.
- Figura 20.** Árbol de expansión de 106 cepas SARM-Tet^R.
- Figura 21.** Prevalencia de SARM-Tet^R (CC398 y no CC398) y SARM-Tet^S durante los 4 años estudiados.
- Figura 22.** Diferencias entre SARM- Tet^R y SARM-Tet^S en relación al fenotipo de resistencias antibióticas de agentes no β -lactámicos.

Lista de tablas

Tabla 1. Mayores investigaciones en *S. aureus*.

Tabla 2. Tipos SCCmec actualmente identificados en cepas de *S. aureus*.

Tabla 3. Diferencias principales entre SARM-AC, SARM-AH y SARM-AG.

Tabla 4. Cabezas de ganado porcino, 2015.

Tabla 5. Características epidemiológicas de los granjeros de cerdos analizados.

Tabla 6. Características de los 81 SARM ST398 detectados en los 140 granjeros de cerdos (GC) de 83 granjas analizadas.

Tabla 7. Detección de SARM ST398 en granjeros de cerdos y cerdos de las 20 granjas estudiadas.

Tabla 8. Diferencias epidemiológicas y factores de riesgo asociados entre pacientes con SARM-Tet^R y SARM-Tet^S. Análisis univariado y multivariado.

Tabla 9. Tipos de infecciones producidas por SARM-Tet^R, SARM-Tet^S y SARM CC398.

Tabla 10. Fenotipos de resistencias a antibióticos no β -lactámicos de las cepas SARM Tet^R.

Tabla 11. Diferencias epidemiológicas entre los residentes colonizados por SARM y no colonizados en las 6 residencias estudiadas.

Tabla 12. Diferencias epidemiológicas entre los residentes colonizados por SARM-Tet^R y SARM-Tet^S en las 6 residencias de ancianos estudiadas.

Tabla 13. Tipado molecular y fenotipos de Resistencia en los ocho residentes colonizados por SARM- Tet^R en las residencias estudiadas.

RESUMEN

El *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) es un importante patógeno humano que causa infecciones nosocomial y adquirida en la comunidad en todo el mundo. Desde 2003, el SARM asociado a la ganadería (SARM-AG) se ha identificado tanto en animales como en seres humanos en zonas con ganadería en Europa, América del Norte y Asia. Asimismo dentro del grupo de SARM-AG están incluidas los clones CC398 y CCT9 entre otros. Estudios previos establecieron que la resistencia a la tetraciclina (tet^R) podría ser un buen marcador para la determinación rápida de las cepas CC398 y CC relacionadas con otros animales entre los aislados clínicos de SARM.

La exposición del ser humano a la ganadería constituye un factor de riesgo para la colonización por SARM CC398 y también para el desarrollo de una posible infección. La mayoría de infecciones producidas por SARM CC398 están relacionadas con infecciones de la piel y tejidos blandos. Sin embargo, se han reportado en Europa, Asia, y Estados Unidos infecciones graves.

La comarca de Osona (Barcelona) es una comarca con una antigua tradición en la industria del cerdo y por consiguiente es una de las comarcas con mayor densidad de cerdos.

Para conocer la importancia de SARM CC398 en un área con alta densidad de granjas de cerdos como es la comarca de Osona se han realizado tres estudios en diferentes poblaciones. El primero fue en granjas de cerdos, en donde se observó una alta prevalencia de SARM CC398 en granjeros (58%) y en cerdos (46%). Se observó que los granjeros de cerdos que trabajan en granjas con más de 1.250 cerdos tienen más probabilidades de ser positivos para SARM CC398. Asimismo se describe por primera vez la prevalencia de SARM CC398 en Cataluña, la región de España con mayor densidad de cerdos. El segundo trabajo se analizaron 4 años (2012-2015), en donde se observó que la prevalencia de SARM-Tet^R (especialmente del linaje CC398) en la comarca de Osona (Barcelona), en pacientes hospitalizados o relacionados con la asistencia sanitaria es elevada, representando más del 50% del total de SARM aislados. El aumento de detección de SARM-Tet^R y especialmente CC398 durante los últimos años hace pensar que en un futuro podría ser el clon SARM comunitario en nuestra zona. Por otra parte se describen las características clínicas de los pacientes en los que se han identificado SARM-Tet^R siendo más jóvenes, con menos comorbilidad, menos ingresos hospitalarios, con una adquisición extrahospitalaria y en un 50% con contacto con granjas de cerdos. Se han detectado infecciones graves por SARM ST398 y con una mortalidad similar a la de SARM-Tet^S. En el tercer trabajo se analizaron seis residencias de ancianos y se observó que la prevalencia de colonización por SARM ST398 en residencias de ancianos en la Comarca de

Osona (Barcelona, España) representa el 15,6% del total de SARM. Las residencias son un reservorio conocido de SARM y en la zona estudiada también podrían ser de SARM ST398.

Con estos tres trabajos se demuestra que el SARM CC398 es un linaje prevalente en la comarca de Osona y con una implicación clínica significativa.

En este sentido las futuras investigaciones apuntan a conocer en otras poblaciones de riesgo como son los trabajadores de un matadero de cerdos y la población general en la comarca de Osona, la prevalencia y las implicaciones clínicas del SARM CC398.

INTRODUCCIÓN

1. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS DE *Staphylococcus aureus*

Aspectos generales

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) pertenece al género *Staphylococcus*, de la familia *Micrococcaceae*. Es un coco gram positivo, no móvil, aerobio y anaerobio facultativos, no formador de esporas y generalmente sin cápsula. El nombre del género fue designado por Ogston en 1882 y deriva del griego “*staphyle*” (racimo) y *coccus* (grano, baya o uva) por la forma que adoptan las bacterias en las tinciones (Ogston, 1882) (Figura 1). Es característica la pigmentación dorada de las colonias (*aureus*, en latín —dorado), debido a la producción de carotenoides durante su crecimiento. Crece bien en medios no selectivos, tolera altas concentraciones de ClNa, es coagulasa, DNAsa y catalasa positivo, y fermenta el manitol. Estas características permiten diferenciarle de otras especies de *Staphylococcus* (Lowy, 1998).

El género *Staphylococcus* contiene 36 especies, 16 de las cuales han sido encontradas en humanos. El más virulento y frecuentemente involucrado en la enfermedad humana es *S. aureus* (Que, 2010).

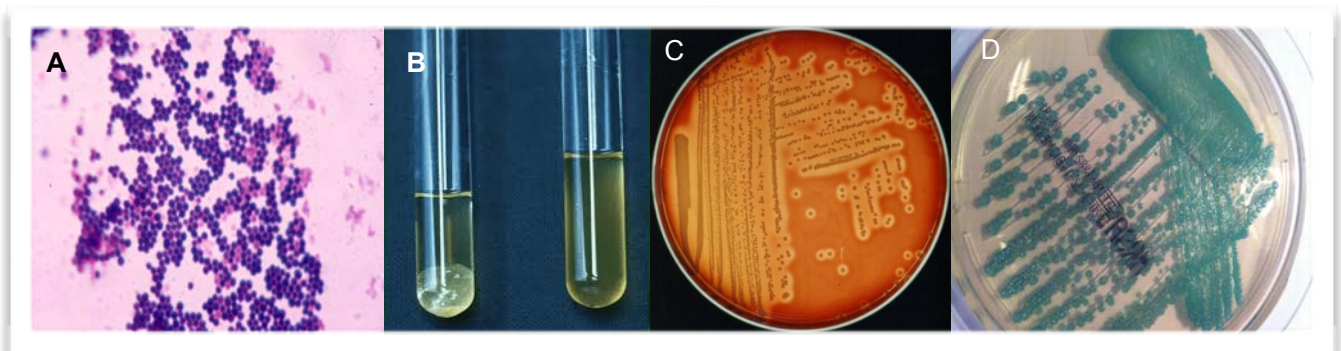


Figura 1 A. Morfología de *S. aureus* en forma de racimos. Fuente: MicrobeWiki, the student-edited microbiology resource. B. Test de coagulasa. C. Agar Sangre. D. Agar cromógeno MRSA-Briance.

S. aureus es un patógeno con gran capacidad de adquirir diferentes mecanismos de resistencia a antibióticos, como se ha puesto de manifiesto a lo largo de la historia. En 1942, sólo un año después de la introducción de la penicilina en la práctica médica, Rammelkamp, comunica las primeras resistencias de *S. aureus* a esta prometedora droga (Rammelkamp and Maxon, 1942).

Este microorganismo había desarrollado la capacidad de producir β -lactamasas, que descomponen el anillo β -lactámico de la penicilina e impiden su unión con las proteínas de unión a la penicilina (PBP). Las PBPs son enzimas localizadas en la membrana bacteriana que están implicadas en la síntesis del peptidoglicano de la pared celular (Gordon and Lowy, 2008).

A finales de los años 40, más de la mitad de los *S. aureus* aislados en hospitales de Inglaterra y EEUU eran resistentes a penicilina. A partir de la década de los 50 comenzó a aumentar la tasa de resistencia a este antibiótico, hasta que finalmente perdió su utilidad para el tratamiento de las infecciones estafilocócicas.

La resistencia a penicilina condujo al desarrollo de penicilinas semisintéticas, como la meticilina, resistentes a la acción de las β -lactamasas de *S. aureus*, para las que este microorganismo también desarrollaría rápidamente mecanismos de resistencia.

S. aureus resistente a meticilina (SARM) produce PBPs de baja afinidad para los β -lactámicos denominadas PBP2' o PBP2a, que mantienen activa la síntesis de la pared bacteriana en presencia de estos antibióticos. Su producción está codificada por el gen *mecA*, como se describirá posteriormente. Aunque la meticilina no se utiliza actualmente en la práctica médica, el acrónimo SARM (MRSA en la literatura anglosajona) se ha continuado usando.

En un principio, las infecciones por SARM estaban confinadas al ámbito hospitalario, pero posteriormente aparecen en la comunidad, lo que despierta el interés de muchos investigadores y hace que este singular microorganismo se convierta en uno de los más importantes de los últimos años.

2. HISTORIA Y PATOGÉNESIS DEL SARM

La meticilina, primera penicilina resistente a la hidrólisis de las β -lactamasas de *Staphylococcus*, se introdujo en la práctica clínica en 1960. Un año después, en 1961, se describe el primer caso de SARM en Inglaterra, en un aislado intrahospitalario (Jevons, 1961), y en el 1964 se comunica el primer brote de infección nosocomial (Stewart and Holt, 1963).

La resistencia a la meticilina requiere la presencia del gen *mec* (se explicará posteriormente); las cepas que carecen de un gen *mec* no son resistentes a la meticilina. La resistencia a la meticilina se define en el laboratorio de microbiología clínica como la concentración mínima inhibitoria (CMI) de la oxacilina ≥ 4 mcg/mL (CLSI, 2014). También se utilizan otros métodos de detección, como el uso de la prueba de difusión en disco de cefoxitina, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o test de aglutinación para detectar el gen *mec*. Los aislamientos resistentes a la oxacilina o a la meticilina son también resistentes a todos los agentes β -lactámicos, incluidas las cefalosporinas (con la excepción de la ceftarolina, una cefalosporina de quinta generación). Las CMIs de ≤ 2 mcg / mL se consideran sensibles.

En los años siguientes, la prevalencia de SARM fue creciendo en la mayoría de áreas geográficas convirtiéndose en uno de los patógenos intrahospitalarios más graves en todo el mundo (Chambers and Deleo, 2009). Los primeros casos de infección extrahospitalaria por SARM en adultos se comunicaron a principios de la década de los ochenta en Detroit entre adictos a drogas intravenosas (Saravolatz et al., 1982) y posteriormente en internados en instituciones de cuidados prolongados y sujetos con enfermedades crónicas o en contacto frecuente con servicios sanitarios.

Hasta la década de los noventa, el SARM raramente causaba infecciones entre los miembros de la comunidad sin exposición al entorno sanitario (excepto los usuarios de drogas inyectables). Un primer brote de SARM entre 1989 y 1991 fue descrito entre indígenas de Australia occidental que no habían estado en contacto con la asistencia sanitaria (Udo, 1993). Posteriormente, la caracterización molecular de estas cepas demostró la emergencia de un nuevo tipo de SARM, distinto a los aislados en los hospitales australianos hasta esa fecha, y que se conocerían como WA-MRSA-1 (Coombs et al., 2006).

A finales de los años noventa, cuatro niños sin factores de riesgo establecidos para SARM, murieron por infecciones causadas por SARM en Minnesota y Dakota del Norte, en todos los casos se asociaron a

neumonía necrotizante o abscesos pulmonares y sepsis (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 1999).

Posteriormente en Europa desde finales de los años 90, varios estudios comienzan a identificar casos aislados de SARM en la comunidad. (Larsen et al., 2009; Salmenlinna and Vuopio-Varkila, 2001; Chini et al., 2006; Dufour et al., 2002). El estudio molecular de las nuevas cepas aisladas objetivó la existencia de marcadores asociados a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina asociado a la Comunidad (SARM-AC), como la presencia del cassette cromosómico estafilocócico tipo IV (SCC_{mec} IV) y de los genes que codifican la Leucocidina de Panton-Valentine (LPV), que los diferenciaba de los aislados SARM-AH (Vandenesch et al., 2003).

Actualmente, SARM-AC es un patógeno establecido en la comunidad en casi todos los países del mundo y especialmente en Europa constituye un importante problema de salud. Asimismo, se han descrito un aumento de las infecciones invasivas por SARM-AC, y se ha convertido también, en un patógeno nosocomial importante (David and Daum, 2010). (Tabla 1).

Año	Evento
1880	Alexander Ogston identifica micrococcus en una infección purulenta.
1931	Asociación entre colonización nasal y forunculosis.
1934	Se populariza el test de la coagulasa para la identificación de <i>S. aureus</i> .
1944	Introducción de fago.
1947	Se identifica <i>S. aureus</i> resistente a Penicilina.
1952	Asociación entre colonización nasal por <i>S. aureus</i> e infección por la misma cepa determinada por fago.
1961	Se identifica <i>S. aureus</i> resistente a Meticilina (SARM).
1991	Se utiliza el Campo pulsado electroforético para el genotipado de <i>S. aureus</i> .
1994	Identificación de <i>microbial surface components recognising adhesive matrix molecules</i> (MSCRAMMs).
2000	Aparición de <i>Multilocus sequence typing</i> (MLST) para el estudio clonal de <i>S. aureus</i> .
2001	Aparición del <i>Whole genome of S. aureus sequenced</i> .
2001	El 80% de las bacteriemias por <i>S. aureus</i> son endógenas.
2001	Incremento significativo de infecciones por SARM en la comunidad.
2002	Se identifica <i>S. aureus</i> resistente a Vancomicina.
2005	Se identifica SARM CC398 en cerdos y granjeros.

Tabla 1. Mayores investigaciones en *S. aureus*. Modificado de Wertheim et al. Lancet Infect Dis. 2005.

3. PRINCIPALES FACTORES DE VIRULENCIA DE *S aureus*

3.1 Estructura Bacteriana

Tanto la estructura bacteriana como los factores de virulencia de *S aureus* están compuesto por los componentes de la pared bacteriana, enzimas extracelulares y toxinas.

- **Pared bacteriana**

La pared bacteriana está compuesta por una **cápsula polisacárida** cuya función es inhibir la fagocitosis por los polimorfonucleares. También está compuesta por **peptidoglicanos** que tienen actividad endotoxina. Son los encargados de estimular la producción de pirógenos endógenos, activación del complemento, la formación de interleucina-1 por parte de los monocitos y la agregación de los leucocitos polimorfonucleares, proceso que origina la formación de abscesos.

Las enzimas que catalizan la construcción de la capa de peptidoglicano se denominan proteínas ligadoras de penicilina (Penicillin-binding proteins (PBPs) y son las dianas para las penicilinas y otros antibióticos β -lactámicos.

Los **ácidos teicoicos** facilitan la unión a la superficie de las mucosas, así como la **membrana citoplasmática** que entre otras funciones actúa de barrera osmótica celular y las **proteínas de membrana** que actúan como receptores de adhesión de moléculas (Adhesinas), participan en la evasión de la respuesta inmunitaria y la formación de biopelículas. Así, una de las proteínas prevalente se denomina **microbial surface components recognising adhesive matrix molecules (MSCRAMMs)** que suele estar implicado en la instauración de infecciones intravasculares, óseas, articulares o dispositivos protésicos. La **Proteína A** recubre la superficie de la mayoría de las cepas de *S. aureus* e inhibe la opsonización y la fagocitosis uniéndose al receptor Fc de las inmunoglobulinas (Ig) (**Figura 2**).

- **Enzimas extracelulares**

S. aureus produce diferentes enzimas como la **coagulasa** que puede estar ligada a la pared bacteriana o libre, la **hialuronidasa** hidroliza los ácidos hialurónicos del tejido conectivo. La **fibrinolisisina**, disuelve los coágulos de fibrina, las **lipasas** hidrolizan los lípidos y garantizan la supervivencia de los estafilococos en las regiones sebáceas del huésped y la **nucleasa** que es capaz de hidrolizar el ADN viscoso. La **catalasa**,

tiene la función de descomponer el peróxido de hidrogeno que generan los polimorfonucleares y la **penicilinas** inactiva la penicilina hidrolizando el anillo β -lactámico.

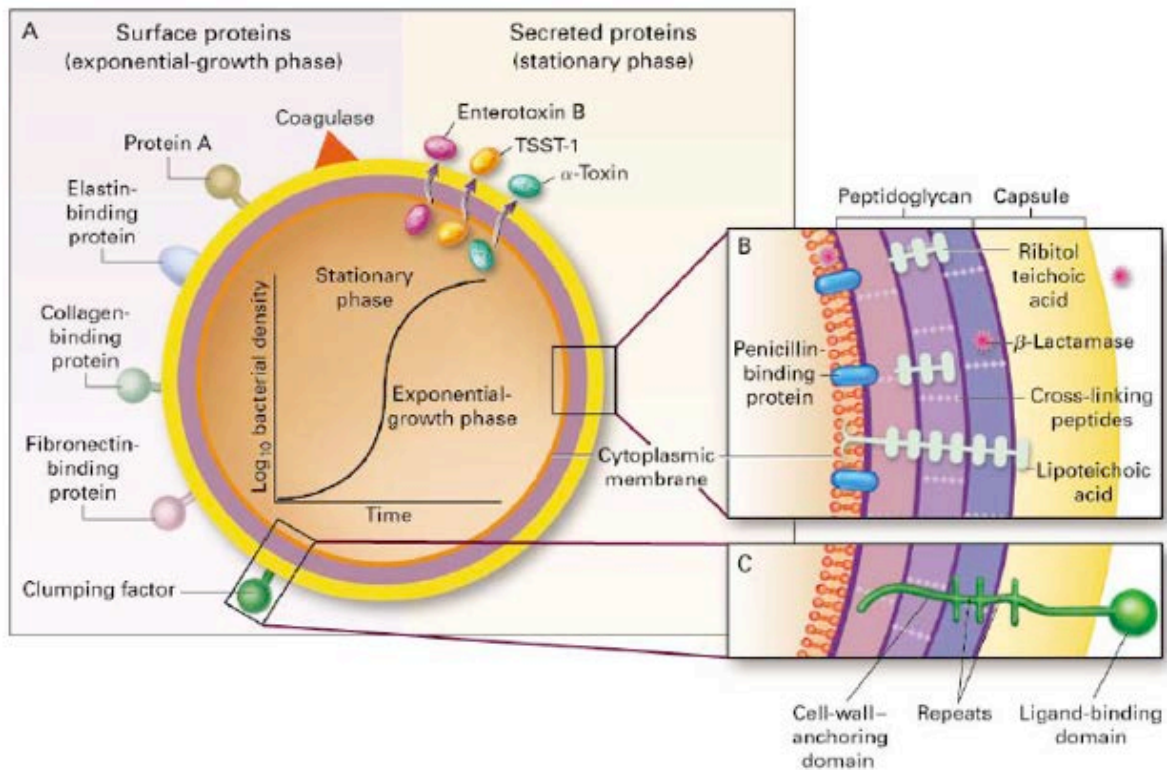


Figura 2. Estructura de *S. aureus*. Franklin D. Lowy, M.D. N Engl J Med 1998.

- Toxinas

A. Citotoxinas

Una de las características importantes de *S. aureus* es su capacidad para secretar toxinas que dañan las membranas de las células del huésped provocando la liberación del contenido y la muerte de la célula (Foster, 2005).

S. aureus secreta diversas toxinas, entre las que se encuentran la α -hemolisina, β -hemolisina, γ -hemolisina, leucocidina y la leucocidina Pantón-Valentine (PVL). La leucocidina PVL es clasificada como una citolisina de dos componentes, debido a que depende de que dos proteínas sean secretadas por *S. aureus*. Las proteínas LukF-PV y LukS-PV se liberan como monómeros y se insertan en la membrana plasmática del huésped, lo que conduce a la formación de un poro. La presencia de este poro tiene como consecuencia la liberación de iones y finalmente la muerte de la célula (Aman et al., 2010). La leucocidina

de Panton-Valentine (PVL) tiene actividad leucotóxica y no hemolítica. Se encuentra en <5% de las cepas de SARM intrahospitalarias y prácticamente en todas las cepas SARM comunitarias. La producción de esta ha sido vinculada a los forúnculos, abscesos cutáneos, e infecciones graves de la piel necrótica (Lina et al., 1985).

B. Enterotoxinas

Las enterotoxinas están asociadas a intoxicaciones alimentarias, son producidas por el 30% de *S. aureus*. Las enterotoxinas estafilocócicas son termorresistentes, algunas pueden mantenerse estables incluso al calentar los alimentos más de 100 °C durante 30 minutos,¹⁵ y son resistentes a la hidrólisis por enzimas gástricas y pancreáticas. Hasta el momento se han descrito 18 enterotoxinas; SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI, SEJ, SEK, SEL, SEM, SEN, SEO, SEP, SEQ, SER i SEU, cada una de ellas codificada por un gen que se denomina con el prefijo seguido de la letra a la que corresponde la enterotoxina que codifica.

C. Toxinas exfoliativas

Las toxinas exfoliativas son proteasas de serina que catalizan la destrucción de la proteína desmogleína-1, una proteína que mantiene adheridos a los queratinocitos del estrato granuloso en la epidermis. Están presentes en menos del 10% de los estafilococos. Estas toxinas están relacionadas con el síndrome de piel escaldada, una enfermedad secundaria a la dermatitis exfoliativa mediada por estas toxinas. Existen dos formas distintas de toxinas exfoliativas en *S. aureus*, ETA (*Exfoliative toxin A*) y ETB (*Exfoliative toxin B*). ETA es codificada por un gen cromosómico y es termoestable, mientras que ETB es codificada por un plásmido y es termolábil.

D. Toxina-1 del síndrome de shock tóxico (TSST-1).

La Toxina-1 del síndrome de shock tóxico (TSST-1) es una toxina termoestable y resistente a proteólisis que produce el síndrome de shock tóxico al actuar como un superantígeno. Esta patología está asociada con la infección de una herida por *S. aureus*. La toxina es estructuralmente parecida a las enterotoxinas B y C, y el gen que la codifica está presente en el 20% de las cepas de *S. aureus*.

3.2 Evasión del sistema inmune Humano por parte de *S. aureus*

Staphylococcus aureus puede causar infecciones superficiales de la piel y ocasionalmente infecciones que implican la propagación a través del torrente sanguíneo. El organismo expresa varios factores que comprometen la eficacia de neutrófilos y macrófagos, la primera línea de defensa contra la infección. *S. aureus* secreta proteínas que inhiben la activación del complemento, la quimiotaxis de neutrófilos o lisan los neutrófilos, neutraliza antimicrobianos y su superficie celular se modifica para reducir su eficacia. *S. aureus* puede sobrevivir en fagosomas, expresa polisacáridos y proteínas que inhiben la opsonización por anticuerpos y complemento, y su pared celular es resistente a la lisozima. Además, *S. aureus* expresa varios tipos de superantígenos que alteran la respuesta inmune humoral normal, resultando en anergia e inmunosupresión. (Foster, 2005) (Figura 3).

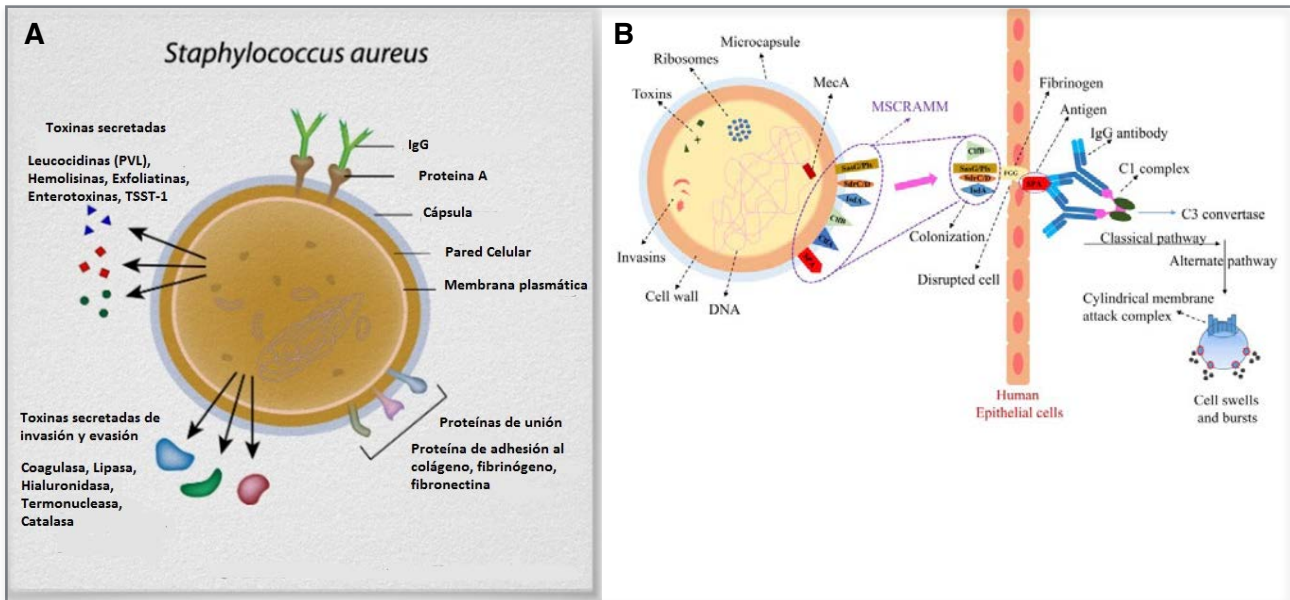


Figura 3. Principales sistemas de evasión inmune de *S. aureus*. **A.** Modificado de alilamedicalimages.com. **B.** Zaveri K. Int J Pharm Pharm Sci. 2016.

4. EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR y TIPADO MOLECULAR de *S. aureus*

A partir de la década de los 60 comenzaron a ponerse en marcha estrategias microbiológicas con la intención de poder tipificar las cepas productoras de enfermedades y conocer la transmisión horizontal. De esta manera se hizo posible conocer la dinámica global de las infecciones por *S. aureus* y entender la aparición y diseminación de algunos clones más virulentos y resistentes a los antibióticos.

Las primeras estrategias se basaban en las características fenotípicas de los microorganismos (propiedades antigénicas, metabólicas o de resistencia antibiótica). Sin embargo, muchos de estos sistemas fenotípicos son limitados para establecer diferencias o similitudes concluyentes entre microorganismos (Dominguez et al., 2005).

Las estrategias dirigidas a prevenir la propagación del SARM requieren un conocimiento profundo tanto de la diseminación como de la epidemiología de las cepas de SARM. Es por eso que a partir de la década de los 70 comienzan a desarrollarse los métodos moleculares. Estos se basan en la comparación entre cepas de un fragmento del genoma bacteriano con la variabilidad adecuada.

4.1 Tipado Molecular

Para poder entender la epidemiología de *S. aureus* y SARM, predominantes en brotes e infecciones tanto en el ámbito hospitalario, comunitario, especies animales y conocer los clones o líneas genéticas implicadas, se han desarrollado una amplia gama de técnicas para llevar a cabo el tipado molecular de cada aislado. La mayor ventaja de las técnicas de tipificación basadas en el estudio y manipulación del ADN radica en la estabilidad de los marcadores genéticos utilizados y en la posibilidad de aplicarlos transversal y universalmente a distintos géneros y especies de microorganismos (Dominguez et al., 2005)

Entre los métodos moleculares destacan los métodos basados en el análisis plasmídico, ribotipado por PCR, ampliación del fragmento de longitud polimórfica (AFLP), electroforesis en gel de campo pulsante (PFGE) y los métodos basados en la secuenciación del ADN como el análisis de secuencias repetidas de la proteína A (*spa* typing) y tipificación de secuencias multilocus (MLST),

A continuación se desarrollan algunas técnicas moleculares y dentro de ellas las que se utilizaron para la elaboración de esta tesis.

4.1.1 Tipado mediante electroforesis en gel de campo pulsante (PFGE)

El tipado de PFGE de SARM se basa en la digestión del ADN cromosómico purificado con la enzima de restricción *SmaI*, seguida de electroforesis en gel de agarosa. El ADN, inmovilizado en la agarosa, se corta con tijeras moleculares (enzimas de restricción) en lugares específicos (sitios de restricción). Con este procedimiento se genera un pequeño número de piezas de ADN que se pueden separar en función del tamaño. A continuación las piezas de ADN se separan en función del tamaño usando un campo eléctrico. Esto produce una huella digital de ADN con un patrón específico. Se considera que la PFGE es uno de los métodos de tipificación más discriminatorios para estudiar los brotes y la transmisión hospitalaria.

Los patrones de PFGE se analizan de acuerdo con el esquema de Tenover et al. (Tenover et al., 1995). Se han realizado esfuerzos significativos para armonizar los protocolos PFGE y para establecer una nomenclatura normalizada, sin embargo, estos esfuerzos han demostrado ser sólo parcialmente exitoso cuando se juzga en términos de reproducibilidad, velocidad y costos de análisis (Murchan et al., 2003) [(Van Belkum et al., 1998). Con la aparición de nuevas líneas genéticas, con la técnica de PFGE eran agrupadas como no tipables, como es el caso de la línea genética ST398 que precisa de otras enzimas de restricción (Bosch et al., 2010) (Kadlec et al., 2009).

4.1.2 Tipado del cassette cromosómico *SCC_{mec}*

Es una técnica basada en el análisis del *Staphylococcal cassette chromosome* (SCC) que es una isla genómica que se encuentra integrada en el cromosoma de *S. aureus*. Esta estructura genética, contiene, los genes que codifican la resistencia a meticilina, ya sea *mecA* o *mecC*. Aunque el origen del gen *mecA* no está del todo claro, se cree que proviene de la especie *Staphylococcus sciuri* (Shang Wei Wu et al., 2001). La expresión del gen *mecA* en la proteína PBP2a, está regulado por otros dos genes: *mecI* y *mecRI*. El primero codifica la proteína represora de la transcripción del gen *mecA*, mientras que el segundo actúa como regulador de la señal de transducción de dicho gen. Para que el gen *mecA* se transcriba, el β -lactámico debe unirse al dominio receptor codificado por el *mecRI*, esto induce a la proteasa autocatalítica a unirse a *mecI* con lo que el operador del *mecA* queda libre expresándose la proteína PBP2a (Zhang et al., 2001). Por otra parte existen dos genes, *ccrA* y *ccrB*, presentes en el elemento *SCC_{mec}*. Estos genes codifican recombinasas capaces de escindir e integrar dicho elemento en el cromosoma. También presenta elementos o secuencias de inserción como son el IS431 y el IS1272. Al conjunto del gen *mecA*, sus genes reguladores (*mecI* y *mecRI*) y las secuencias de inserción IS431 y IS1272 se le conoce como complejo *mec*. Actualmente se han definido diferentes clases del complejo *mec* (Figura 4).

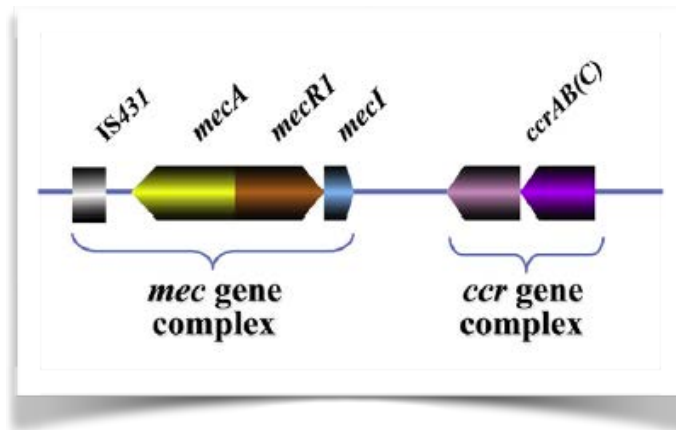


Figura 4. Estructura de SCCmec. Hiramatsu et al. J Infect Chemother. 2014

Los elementos SCCmec se clasifican por un sistema jerárquico en "tipos" y "subtipos". Los "tipos" se definen por la combinación del tipo de complejo del gen ccr, que está representado por el alotipo del gen ccr, y la clase del complejo del gen mec. Estos son los elementos claves responsables de la integración y escisión de SCCmec, y el fenotipo de resistencia beta-lactámico. (www.sccmec.org)

Actualmente se conocen con exactitud 11 tipos de SCCmec y diferentes subtipos (Tabla 2). El SCCmec XI, alberga nuevos determinantes de resistencia como el gen *mecC*, que luego se comentará con mayor detalle (Shore et al., 2011)

Tipo SCCmec	Complejo ccr	Complejo mec
I	1(A1B1)	B
II	2(A2B2)	A
III	3(A3B3)	A
IV	2(A2B2)	B
V	5(C1)	C2
VI	4(A4B4)	B
VII	5(C1)	C1
VIII	4(A4B4)	A
IX	1(A1B1)	C2
X	7(A1B6)	C1
XI	8(A1B3)	E

Tabla 2. Tipos SCCmec actualmente identificados en cepas de *S. aureus* (www.sccmec.org)

4.1.3 Tipado por Multi-Locus-Sequence-Typing (MLST)

El MLST es una técnica desarrollada y diseñada para identificar clones y/o líneas clonales, fundamentalmente en poblaciones bacterianas. Es un marcador molecular de aplicación en epidemiología global o a largo plazo (identificación de grupos poblacionales con independencia de pequeñas variaciones que puedan surgir geográfica y/o temporalmente), aunque ha sido ocasionalmente utilizado para dar respuesta a interrogantes planteados en epidemiología local o a corto plazo (caracterización de brotes, diferenciación de recidivas, reinfecciones y/o fallos terapéuticos, etc). El método está basado en el análisis de la secuencia nucleotídica de fragmentos internos (de aproximadamente 500/700 pares de bases) de unos genes denominados “housekeeping”.

En el caso de *S. aureus*, los 7 genes housekeeping seleccionados son: *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* y *yqiL* (Enright et al., 2000). La secuencia de cada uno de estos genes conforman un alelo que se compara con los alelos conocidos, estándar y accesibles desde la página www.mlst.net. Posteriormente se obtiene el perfil alélico de cada uno de los genes, lo que nos permite la determinación de la secuencia tipo (ST). Finalmente, y con ayuda del algoritmo eBurst, (eburst.mlst.net), obtenemos un determinado perfil alélico que corresponde a un determinado complejo clonal (CC). En general, el CC es definido como un conjunto de STs que se difieren entre sí en un solo alelo, cuantos menos alelos compartan dos líneas genéticas o CC, más alejados se encontrarán filogenéticamente.

4.1.4 Tipado de la región polimórfica del gen *-spa-*

Frenay et al. fue en 1994, el primer equipo en estudiar a la región polimórfica X del *spa* como marcador epidemiológico. En ese momento, se amplificó la región X y se estimó su tamaño mediante electroforesis (Frenay et al., 1994). En 1996, el mismo equipo mejoró la técnica realizando análisis de secuencia de la región X (Frénay et al., 1996). Desde entonces, muchos estudios han evaluado la utilidad de esta técnica para diversos fines epidemiológicos y han confirmado su facilidad de uso y velocidad.

El fundamento de la técnica se basa en la amplificación y posterior secuenciación de la región polimórfica X constituyente de una parte del genoma conservado de *S. aureus*, que codifica la proteína de membrana A. Este gen es susceptible de sufrir adiciones, deleciones y/o mutaciones espontáneas en algunos de sus fragmentos repetidos. De esta manera, analizando el número de repeticiones y su variabilidad se pueden asignar distintos tipos *spa* (Harmsen et al., 2003). Existe una estrecha correlación entre los tipos *spa* y las *sequence type* (ST) determinadas mediante la técnica del MLST.

5. COLONIZACIÓN O ESTADO DE PORTADOR *S. aureus*

S. aureus coloniza la piel y las mucosas de los seres humanos y varias especies animales. Aunque los múltiples sitios del cuerpo se pueden colonizar en seres humanos, las fosas anteriores de la nariz es el sitio de colonización más frecuente para *S. aureus* (Williams, 1963). Los sitios extra-nasales que habitualmente suelen estar colonizados incluyen la piel, el perineo y la faringe (Dancer and Noble, 1991). Otros sitios de colonización incluyendo el tracto gastrointestinal, la vagina y las axilas *S. aureus* son menos frecuentemente (Guinan et al., 1982; Rimland and Roberson, 1986). (Figura 5).

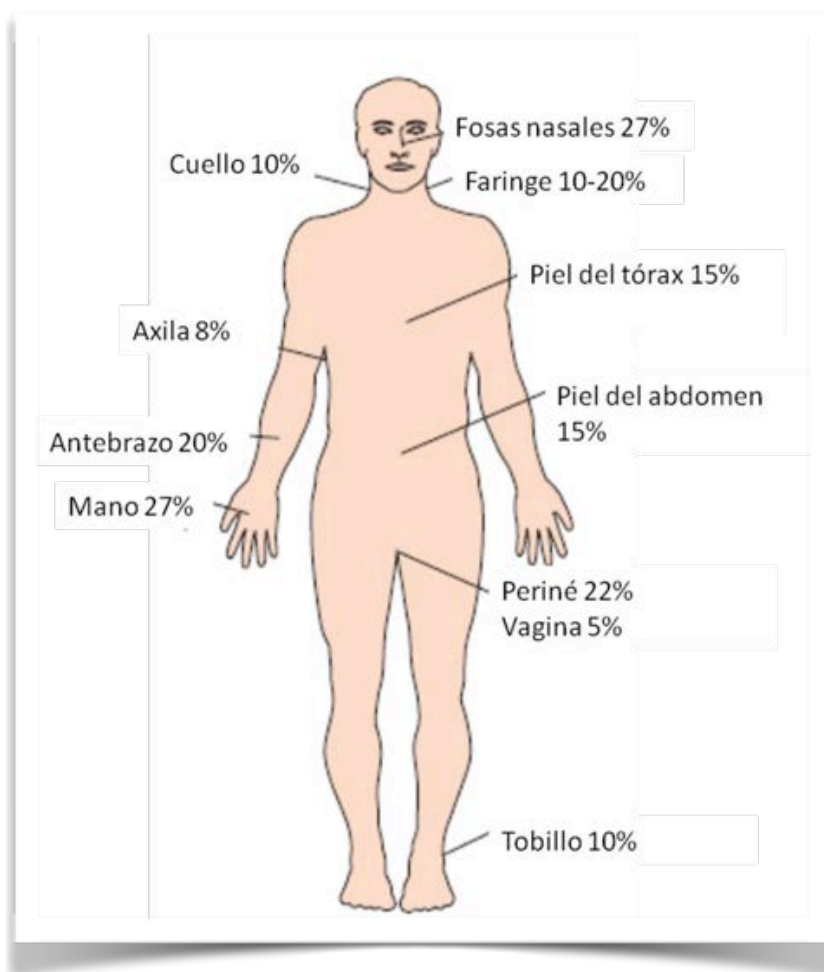


Figura 5. Prevalencia de colonización en los diferentes sitios del cuerpo humano. Modificado de: Wertheim HF et al. Lancet Infect Dis 2005.

Estudios longitudinales distinguen al menos tres patrones de colonización nasal por *S. aureus* en individuos sanos: colonización persistente, colonización intermitente y no colonización (Eriksen et al., 1995). Es conocido que un 20% de la población está colonizada de forma permanente por *S. aureus* y hasta un 30% de forma intermitente (Lucet et al., 2009). Una revisión sistemática, que incluyeron 1804 pacientes señaló que la mediana de tiempo para el aclaramiento de la colonización por SARM era de 88 semanas (Shenoy et al., 2014)

6. MANIFESTACIONES CLÍNICAS E INFECCIONES POR *S. aureus*

Staphylococcus aureus es un patógeno importante responsable de una amplia gama de manifestaciones clínicas que van desde las infecciones relativamente benignas de la piel hasta condiciones que amenazan la vida como la endocarditis y la osteomielitis.

Desde la década del 90 se han producido dos cambios importantes en la epidemiología de *S. aureus*: una epidemia de infecciones cutáneas y de partes blandas asociadas a la comunidad (en gran parte producidas por cepas específicas de SARM) y un aumento del número infecciones asociadas a los cuidados sanitarios especialmente endocarditis infecciosa e infecciones protésicas.

Las manifestaciones clínicas producidas por *S. aureus* se podrían separar en 2 grandes grupos: Las infecciones de Piel - Partes Blandas y las infecciones invasivas.

Infecciones de Piel - Partes Blandas

Las infecciones de la piel y de los tejidos blandos debidas a *S. aureus* incluyen:

- Impétigo (infección de la epidermis)
- Funiculitis (infección de la dermis superficial)
- Furúnculos, carbuncos y abscesos (infección de la dermis profunda)
- Celulitis, erisipela y fascitis (infección de los tejidos subcutáneos)
- Hidradenitis supurativa (infección folicular de áreas intertriginosas)
- Piomiositis (infección del músculo esquelético)
- Mastitis
- Infecciones del sitio quirúrgico

Infecciones Invasivas

- Bacteremia
- Endocarditis Infecciosa
- Infección de implantes cardíacos
- Infección de catéter
- Sepsis – Síndrome de shock tóxico
- Infecciones óseas y prótesis articulares
- Osteomielitis
- Infección de prótesis
- Artritis séptica
- Meningitis
- Infección urinaria

6.1 Infecciones de Piel - Partes Blandas

6.1.1 Impétigo

El impétigo es una infección bacteriana superficial contagiosa observada con mayor frecuencia en niños aunque también pueden afectar a niños mayores de cualquier edad y adultos. Puede ser clasificado como impétigo primario (invasión bacteriana directa de piel previamente normal) o impétigo secundario (infección en sitios de trauma menor de la piel como abrasiones, traumatismos menores y picaduras de insectos o condiciones subyacentes como eccema). Pioderma y el impétigo contagioso se usan a veces como sinónimos del impétigo primario. El impétigo secundario a veces se conoce como "impetiginización".

La infección generalmente ocurre en condiciones cálidas y húmedas y se propaga fácilmente entre individuos en contacto cercano; Los factores de riesgo incluyen la pobreza, hacinamiento, mala higiene, y la sarna subyacente (Bowen et al., 2015). El estado de portador se considera como un factor predispone al impétigo posterior (Dajani et al., 1972) y las variantes del impétigo incluyen: el impétigo no bulloso, el impétigo ampolloso y el ectima.

Impétigo no bulloso: - El impétigo no bulloso es la forma más común de impétigo. Las lesiones comienzan como pápulas que progresan a vesículas rodeadas de eritema. Posteriormente se convierten en pústulas que se agrandan y se descomponen rápidamente para formar gruesas costras adherentes con un aspecto dorado característico; Esta evolución ocurre generalmente sobre una semana. Las lesiones usualmente involucran la cara y las extremidades. Pueden desarrollarse lesiones múltiples pero tienden a permanecer bien localizadas.

Impétigo ampolloso - Impétigo bulloso: Es una forma de impétigo en las que las vesículas se agrandan para formar bullas flácidas con líquido amarillo claro en su interior; Las bullas rotas pueden dejar una fina corteza marrón (Hirschmann, 2002). Por lo general, hay menos lesiones que en el impétigo no bulloso, y el tronco es más frecuentemente afectado.

Ectima: Es una forma ulcerativa de impétigo en el que las lesiones se extienden a través de la epidermis y profundamente en la dermis. Consisten en úlceras "perforadas" cubiertas de corteza amarilla rodeadas por márgenes violáceos elevados (Hewitt and Farrar, 1988).

6.1.2 Folliculitis

Folliculitis se refiere a la inflamación superficial o profunda del folículo piloso. Los hallazgos clínicos clásicos de la folliculitis superficial son pústulas foliculares y pápulas eritematosas foliculares en la piel con pelo. Los nódulos son una característica de la inflamación folicular profunda.

La folliculitis puede ser infecciosa o, con menor frecuencia, no infecciosa. Varias bacterias, hongos, virus y parásitos son causas de folliculitis infecciosa. La folliculitis es una de las infecciones que contribuyen a la creciente prevalencia de infecciones por MRSA adquiridas en la comunidad (Cohen, 2007).

La folliculitis bacteriana puede ocurrir en bebés, niños o adultos. Los factores que pueden aumentar el riesgo incluyen (Luelmo-Aguilar and Santandreu, 2004). La colonización nasal de *S. aureus*, oclusión de folículos pilosos, hiperhidrosis, enfermedad pruriginosa subyacente de la piel (por ejemplo, dermatitis atópica), aplicación prolongada de corticosteroides tópicos, terapia antibiótica oral a largo plazo para el acné y afeitado en la dirección del crecimiento del vello.

Los hallazgos clínicos clásicos en la folliculitis bacteriana son pústulas foliculares y pápulas eritematosas foliculares. El prurito es el síntoma más común asociado con la folliculitis. Los pacientes también pueden experimentar pústulas dolorosas.

La foliculitis por *S. aureus* es más común en el cuero cabelludo y la cara (Laureano et al., 2014). Otros sitios comunes incluyen el tronco superior, las nalgas y las piernas, así como las axilas en los lactantes y los niños (Luelmo-Aguilar and Santandreu, 2004). La foliculitis por SARM adquirida en la comunidad puede ser más probable que ocurra en el tórax, los flancos, el escroto y la región periumbilical que las infecciones por *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) (Cohen, 2007).

La foliculitis barbae (también conocida como sycosis barbae) es una foliculitis bacteriana que involucra porciones profundas de los folículos pilosos en las áreas de la barba de la cara y el cuello (Laureano et al., 2014).

6.1.3 Furúnculos, carbuncos y abscesos

El absceso está entre las infecciones más comunes de la piel y tejidos blandos. Se define absceso cutáneo como una colección de material purulento dentro de la dermis o del espacio subcutáneo. El absceso cutáneo puede ocurrir en individuos sanos y sin condiciones predisponentes (Liu et al., 2011).

6.1.4 Celulitis

La celulitis (que incluye la erisipela) se manifiesta como un área de eritema cutáneo, edema y calor; Se desarrolla como resultado de la entrada bacteriana a través de las brechas en la barrera de la piel (Liu et al., 2011).

Los factores predisponentes para el desarrollo de celulitis y / o absceso de la piel incluyen (McNamara et al., 2007): Interrupción de la barrera de la piel debido a trauma (como abrasión, herida penetrante, úlcera por presión, úlcera venosa de pierna, picadura de insecto, uso de drogas inyectables) o sin antecedente de trauma ("intertrigo"), inflamación de la piel (como eczema, radioterapia), edema debido al drenaje linfático deteriorado o insuficiencia venosa, obesidad, inmunosupresión (como diabetes o infección por el VIH), infección cutánea preexistente (como tinea pedis, impétigo, varicela) o ser portador de SARM .

6.1.5 Hidradenitis supurativa

Hidradenitis supurativa (HS) es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel conocida también como acné inversa (AI), e históricamente, como la enfermedad de Verneuil (Sellheyer and Krahl, 2005). Los sitios primarios son las áreas de la piel de las regiones axilar, de la ingle, perianal, perineal, e infra mamaria, aunque el puede ocurrir en cualquier área de la piel que contiene folículos pilosos. Las manifestaciones clínicas varían, desde nódulos inflamatorios recurrentes y abscesos, hasta drenaje de los tractos sinusales

y bandas de formación severa de cicatrices. El dolor asociado, el mal olor, el drenaje y la desfiguración que acompañan a HS / AI contribuyen a un profundo impacto psicosocial de la enfermedad en muchos pacientes. La prevalencia de hidradenitis supurativa van desde menos del 1% al 4% (Alikhan et al., 2009). El inicio de los síntomas usualmente ocurre entre la pubertad y los 40 años, con inicio habitual en la segunda o tercera década de vida. Las mujeres tienen más probabilidades de desarrollar HS / AI que los hombres (Vazquez et al., 2013).

6.1.6 Piomiositis

La piomiositis es una infección del músculo esquelético que surge de la diseminación hematológica, generalmente con formación de abscesos (Stevens et al., 2014). Los factores predisponentes para la piomiositis incluyen inmunodeficiencia (infección por VIH, diabetes mellitus, neoplasia, cirrosis, insuficiencia renal, trasplante de órganos y administración de agentes inmunosupresores) (Belsky et al., 1994), trauma, uso de drogas endovenosas, infección intercurrente (ej: Toxocariasis, Varicela) y desnutrición (Crum, 2004).

6.1.7 Mastitis

La mastitis se define como la inflamación del tejido mamario que puede o no estar acompañada de infección. La mastitis no ocurre necesariamente durante la lactancia, no siempre se acompaña de infección microbiana.

La infección secundaria de los conductos inflamados puede conducir al daño del conducto, ruptura y posterior formación de un absceso. Estos abscesos a menudo drenan espontáneamente en el borde de la areola.

6.1.8 Infecciones del lecho quirúrgico

Las infecciones del lecho quirúrgico (ILQ) son una causa común de la infección asociada a la asistencia sanitaria (World Health Organization, 2016). Las ILQ a menudo se localizan en el sitio de la incisión, pero también pueden extenderse hacia estructuras adyacentes más profundas. Representan las causas más comunes y más costosas infecciones asociadas con la asistencia sanitaria (Zimlichman et al., 2013). Entre los pacientes quirúrgicos, las ILQ representan el 38% de las infecciones nosocomiales.

Los criterios clínicos para definir ILQ incluyen uno o más de los siguientes: Un exudado purulento que drena del lecho quirúrgico, un cultivo positivo obtenido del lecho quirúrgico que fue cerrado, un sitio

quirúrgico que vuelve a abrirse en el marco de al menos un signo clínico de infección (dolor, edema, eritema, calor), el diagnóstico de infección por parte del cirujano (Bratzler et al., 2013).

Los patógenos causales asociados con las ILQ en los Estados Unidos han cambiado en el transcurso de los años. Así, en la década de los 80 el porcentaje de ILQ causado por bacilos gramnegativos era alrededor del 56%, a partir de finales de los 90 (Gaynes et al., 2005) y a principios del 2000 el *S. aureus* era la primera causa de ILQ (Hidron et al., 2008). Por otra parte entre 2003 y 2007, la proporción de infecciones causadas por SARM aumentó del 16% al 20% y las infecciones por SARM se asociaron a mayores tasas de mortalidad, estancias hospitalarias más prolongadas y mayores costos (Weigelt et al., 2010).

6.2 Infecciones Invasivas

6.2.1 Bacteriemia

La bacteriemia por *S. aureus* se define como hemocultivo positivo para *S. aureus*. Con frecuencia, esto ocurre en asociación con síntomas correlativos tales como fiebre o hipotensión. *S. aureus* es una de las principales causas de bacteriemia adquirida en la comunidad y adquirida en el hospital. La bacteriemia puede desarrollarse como una complicación de una infección primaria por *S. aureus* tal como infección de piel y tejidos blandos, infección ósea o articular, o neumonía. Los catéteres vasculares son una fuente común de bacteriemia. La bacteriemia también puede conducir a una posterior infección por *S. aureus* en un sitio previamente estéril, como endocarditis o infección del dispositivo protésico (Fowler et al., 2005; Lowy, 1998).

6.2.2 Endocarditis Infecciosa

La endocarditis infecciosa por *S. aureus* es la causa más común de endocarditis infecciosa (EI) en entornos de altos recursos (Fowler et al., 2005). La incidencia de EI una bacteriemia por *S. aureus* es de 10% a 15% (Chang et al., 2003). La probabilidad de EI está relacionada con las circunstancias de la bacteriemia; así la bacteriemia adquirida en la comunidad es probable que se detecte más tarde y, por lo tanto, es más probable que se asocien con complicaciones que la bacteriemia asociada a la asistencia sanitaria.

Los factores de riesgo para IE en el contexto de la bacteriemia por *S. aureus* incluyen (Le Moing et al., 2015). Válvula cardíaca protésica (El-Ahdab et al., 2005), anomalías cardíacas predisponentes, uso de drogas endovenosas, infección del catéter intravascular, bacteriemia de origen desconocido, bacteriemia persistente. La EI debido a *S. aureus* puede ser más severo que la EI debido a otros microorganismos,

presenta mayores complicaciones neurológicas (18% vs 8%), fallo multiorgánico (29% vs 10%) y mayor mortalidad (34% vs 10%) (Nadji et al., 2005).

6.2.3 Infección de dispositivos cardíacos

Los pacientes con dispositivos cardíacos (como los marcapasos permanentes o los desfibriladores cardioversores implantables) que desarrollan bacteriemia por *S. aureus* tienen un riesgo aumentado de endocarditis y / o infección del dispositivo cardíaco. En una serie de 33 pacientes con un dispositivo cardíaco que desarrolló bacteriemia por *S. aureus*, la tasa de infección del dispositivo fue del 45% (Chamis et al., 2001).

La presencia de un catéter intravascular es un factor de riesgo para el desarrollo de la bacteriemia de *S. aureus*, y el inicio de una bacteriemia por *S. aureus*.

La tromboflebitis séptica puede ocurrir en el contexto de la infección intravascular del catéter. Las manifestaciones clínicas incluyen congestión venosa (por ejemplo, distensión venosa o edema asimétrico de las extremidades).

6.2.4 Sepsis y síndrome de shock tóxico

El síndrome de shock tóxico también puede aparecer como complicaciones de infecciones cutáneas, quemaduras y después de una cirugía. puede afectar en cualquier momento de la vida y a ambos sexos por igual. Los factores de riesgo incluyen: Haber dado a luz recientemente, infección previa por *S. aureus*, cuerpos extraños o tapones (como los que se utilizan para detener el sangrado nasal), periodo menstrual, cirugía reciente, Uso de tampón (particularmente si se deja por mucho tiempo), infección de una herida después de cirugía. Las manifestaciones del síndrome de shock tóxico estafilocócico incluyen entre otras fiebre, hipotensión, fallo multiorgánico y manifestaciones dermatológicas especialmente la aparición de un rash eritematoso generalizado y posteriormente descamación de la piel entre la 1 o 2 semanas después de la erupción, especialmente en las palmas de las manos o las plantas de los pies. Presenta una alta mortalidad llegando al 50% de los casos.

6.2.5 Absceso esplénico

El absceso esplénico es una complicación poco frecuente de la sepsis estafilocócica y / o endocarditis (Ebright et al., 2007). Las manifestaciones clínicas incluyen dolor en el cuadrante superior izquierdo (con o sin esplenomegalia) y fiebre (que puede ser recurrente o persistente a pesar de la terapia antimicrobiana

adecuada) (Johnson et al., 1983). El diagnóstico suele confirmarse mediante ecografía o tomografía computarizada (Ting et al., 1990).

6.2.6 Infección osteoarticular

S. aureus es el patógeno más común que causa osteomielitis, artritis séptica y la infección de prótesis articular (Bowen et al., 2015) (Tong et al., 2015). El dolor en la columna vertebral o en las articulaciones debe elevar la sospecha de un sitio oculto de infección en pacientes con bacteriemia por *S. aureus* actual o reciente.

6.2.7 Osteomielitis

La osteomielitis se desarrolla a través de uno de los dos mecanismos: hematógena (en el contexto de la bacteriemia por *S. aureus*) o secundaria a un foco contiguo de infección.

La osteomielitis hematógena se presenta más comúnmente en forma de compromiso vertebral. En una serie que incluyó a 309 pacientes con osteomielitis hematógena por *S. aureus*, la osteomielitis y / o discitis vertebrales ocurrieron con más frecuencia entre los pacientes mayores de 50 años con bacteriemia adquirida en la comunidad y sin foco aparente (Espersen et al., 1991). El absceso epidural puede acompañar a la osteomielitis vertebral.

6.2.8 Infección de las prótesis articulares

El mecanismo para el desarrollo de la infección protésica articular (IPA) depende del plazo para el inicio de los síntomas. Las infecciones tardías (> 12 meses después de la cirugía) se deben principalmente a la siembra hematógena.

Los pacientes con dispositivos ortopédicos y que presentan una bacteriemia por *S. aureus* adquirida en la comunidad, la tasa de siembra hematógena oscila entre el 34% y el 41% (Murdoch et al., 2001; Tande et al., 2016). El riesgo de IPA puede llegar a ser dos veces mayor para las artroplastias de rodilla en comparación con las artroplastias de cadera (35% versus 19%) y la presencia de material protésico es también un factor de riesgo importante para la infección recidivante subsiguiente (Tande et al., 2016).

6.2.9 Artritis o bursitis séptica

La mayoría de los casos de artritis séptica surgen a través de la propagación hematógena a la articulación. La articulación es particularmente susceptible a la infección hematógena porque el espacio articular

sinovial es un tejido altamente vascularizado sin una membrana basal. Otros mecanismos incluyen el trauma, la inoculación directa de bacterias durante la cirugía de las articulaciones o la extensión de la infección ósea en el espacio articular.

La bursitis séptica surge como resultado de la inoculación directa a través de la punción de la bursa o a través de la propagación contigua de la piel adyacente o infección de tejido blando.

6.2.10 Meningitis

La meningitis por *S. aureus* ocurre más comúnmente después de un traumaumatismo craneal o intervención neuroquirúrgica, menos comúnmente, también puede ocurrir como una complicación de una bacteriemia (Pintado et al., 2002).

6.2.11 Bacteriuria

La bacteriuria por *S. aureus* puede presentarse por infección ascendente en presencia de un catéter urinario o en el establecimiento de bacteriemia por *S. aureus*.

La bacteriuria por *S. aureus* en ausencia de un catéter urinario puede ser un indicador de bacteriemia (Muder et al., 2006). Se deben obtener hemocultivos junto con la evaluación clínica de los signos y síntomas de una infección estafilocócica metastásica u oculta, sobre todo si hay otras indicaciones clínicas de infección como fiebre, leucocitosis o síntomas localizadores como dolor de espalda. En un estudio que incluyó 59 pacientes con bacteriemia por *S. aureus*, se observó bacteriuria en el 27% de los casos (Lee et al., 1978) y un aumento de complicaciones y mortalidad relacionada (Perez-Jorge et al., 2010).

7. EPIDEMIOLOGÍA DE SARM.

CLASIFICACIÓN DEL SARM SEGÚN EL LUGAR DE ADQUISICIÓN Y LÍNEAS GENÉTICAS RELACIONADAS.

S. aureus es una bacteria que dispone de una amplia gama de mecanismos para invadir nuestro organismo, evadir las primeras barreras de nuestro sistema inmunitario y lograr una colonización y muchas veces infección. Posee un genoma que está en constante evolución y su estructura posee tres componentes principales. En primer lugar, una columna vertebral de genes básicos (> 97%), que se encuentran en todas las cepas. Dispersado a lo largo de la columna vertebral un segundo grupo de más de 700 genes de núcleo variable (NV). Los genes NV están distribuidos de forma variable y su patrón de distribución define los linajes de *S. aureus*. En tercer lugar, presenta los Elementos Genéticos Móviles (EGMs), grandes piezas de ADN que codifican funciones de movilización, mostrando evidencia de transferencia y de recombinación (Firth and Skurray., 2006; Lindsay et al., 2006; Lindsay, 2010).

Es por ello que no es posible hablar de un estándar genético, pero si de agruparlos en base a sus diferentes características moleculares y a sus áreas de diseminación. Hablamos entonces de diferentes líneas genéticas de *S aureus* o SARM los cuales están conformados por diversos complejos clonales (CC) que tienen adscritas diversas secuencias tipo (ST).

Las infecciones/colonizaciones por SARM según la CDC se clasifican en función del lugar de inicio. Es decir infecciones por SARM asociadas al Hospital, asociadas a la asistencia sanitaria y finalmente asociada a la comunidad (Centers for Disease Control and Prevention, 2012). En 2005 se describió por primera vez una nueva cepa de SARM en granjeros de cerdos (Armand-Lefevre et al., 2005). Posteriormente se incluirá dentro de la clasificación por lugar de adquisición las asociadas al ganado llamándose LA-MRSA (en inglés: Livestock Associated-MRSA) o SARM asociado al ganado (SARM-AG).

Actualmente la distribución de los diferentes clones a lo largo del mundo y la adquisición de nuevo y variado material genético comienza a dificultar la definición de los límites de estas líneas genéticas (Harris et al., 2010) (Stefani et al., 2012).

7.1 SARM asociado al hospital (nosocomiales) SARM-AH:

Se define como Infección/colonización por SARM-AH a aquellos casos en los que se aísla SARM en el cultivo obtenido 48 hs después de ingreso en el hospital.

A partir del descubrimiento del primer SARM en un hospital de Inglaterra (Jevons, 1961) el número de casos clínicos por SARM en todo el mundo ha crecido de manera exponencial. Según los datos publicados por el Sistema de Vigilancia Europeo de Resistencias (www.earss.rivm.nl), la prevalencia europea en los últimos años ha presentado una clara tendencia a la baja, es decir que si en 2012 la prevalencia era del 18,8% en 2015 era del 16,8%. Esta situación posiblemente sea un reflejo de las medidas cada vez más estrictas en tanto en el manejo como en la prevención. Aún así, si analizamos las prevalencias por países las resistencias pueden ser muy variadas, siendo menores al 1% en Islandia o Suecia, entre un 1 - 5% Holanda, Dinamarca, y Noruega, entre un 5-10% Austria y Lituania, entre un 10-25% Inglaterra, Francia, Alemania, entre 25-50% España, Italia, Grecia, Portugal y mayores de 50% se encuentra actualmente Rumania. (Figura 6). En el caso particular de España se ha detectado un discreto aumento en los últimos años presentando un 24,2% en 2012 y un 25,3 % en 2015.

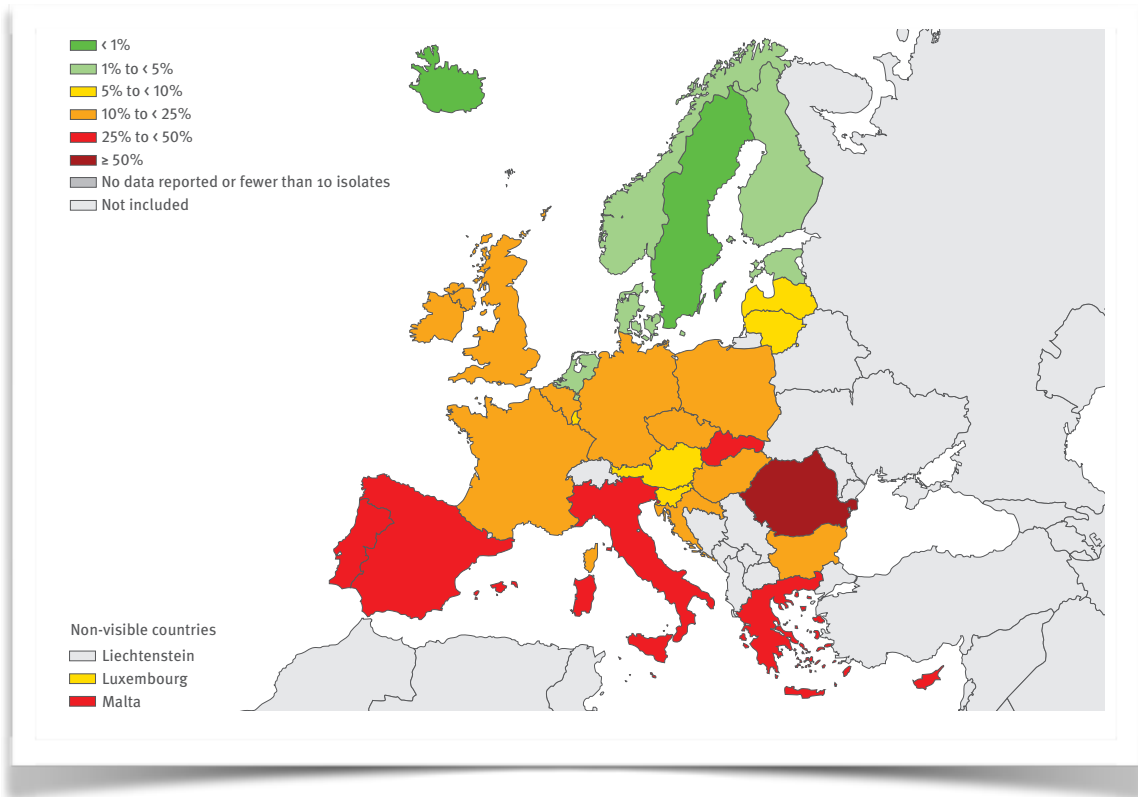


Figura 6. Porcentaje (%) de aislamientos invasivos de SARM, por países de la UE, 2015. Centro Europeo de Prevención y Control de Enfermedades.

Las líneas genéticas más frecuentes de SARM en el ámbito hospitalario de todos los continentes son: CC5, CC8, CC22, CC30 y CC45 (Feil et al., 2003) (Campanile et al., 2010; Chambers and Deleo, 2009). Los complejos clonales CC5 y CC8 son los CC más prevalentes en todo el mundo. Contienen varias variantes ST (que tienen mutaciones puntuales en los genes utilizados para asignar su MLST ST) y se distribuyen de manera diferente en muchos países y / o regiones del mundo. CC22 está generalizado a nivel mundial, CC30-ST36 es común en los EE.UU. y el Reino Unido y CC45 es común en los EE.UU. y Europa (Campanile et al., 2010; Deurenberg and Stobberingh, 2008; Moodley et al., 2010). Los clones asiáticos más frecuentemente reportados son CC8 (ST239), CC5 (ST5) y CC22 (ST22) (Chen et al., 2010; Ghaznavi-Rad et al., 2010; Song et al., 2011). Pruebas recientes muestran que el linaje CC8-ST239-III-t037 en Corea del Sur, Hong Kong, Taiwán y Vietnam y el linaje CC5-ST5-II-t002 en Corea del Sur y Sri Lanka se han extendido desde los hospitales a la comunidad y epidemiológicamente por lo menos, han pasado a ser considerados como SARM-AC (Song et al., 2011). Los clones CC5 (ST5), CC8 (ST239) y CC30 predominan en América Latina (Rodríguez-Noriega et al., 2010). Los datos recientes de África son limitados, pero sugieren un predominio de linajes CC8 (ST239 y la infrecuentemente ST612 se encuentra sólo en Sudáfrica y Australia), CC5 (ST5) y CC30 (ST36) (Breurec et al., 2011; Jansen van Rensburg et al., 2011; Moodley et al., 2010) (Figura 7).

En España, se produjeron varios cambios importantes durante las últimas décadas, así el denominado clon Ibérico en la década de los 90 (ST247/CC5-SCCmec I), fue sustituido posteriormente por otra línea genética, (t067/ST125/CC5-SCCmec IV), ampliamente distribuida por toda la geografía peninsular (Grundmann et al., 2010; Lozano et al., 2013). Casi todas las líneas genéticas europeas asociadas a ámbitos hospitalarios están integradas en un gran complejo clonal, el CC5, y se cree que descienden de un mismo clon ancestral pediátrico (ST125/CC5-SCCmec IV) (Argudín et al., 2009)

7.1.2 SARM asociado con la asistencia sanitaria:

Se ha propuesto la definición de "infecciones asociadas a la asistencia sanitaria" para las infecciones/ colonizaciones que ocurren en los pacientes que viven en la comunidad y que tienen contacto con el sistema sanitario (Friedman et al., 2002). Representan aquellos casos en los que se aísla SARM en un paciente ambulatorio o durante las primeras 48 horas de ingreso, con signos y síntomas de infección, y con alguno de los siguientes factores de riesgo: presencia de algún dispositivo intravascular o sonda,

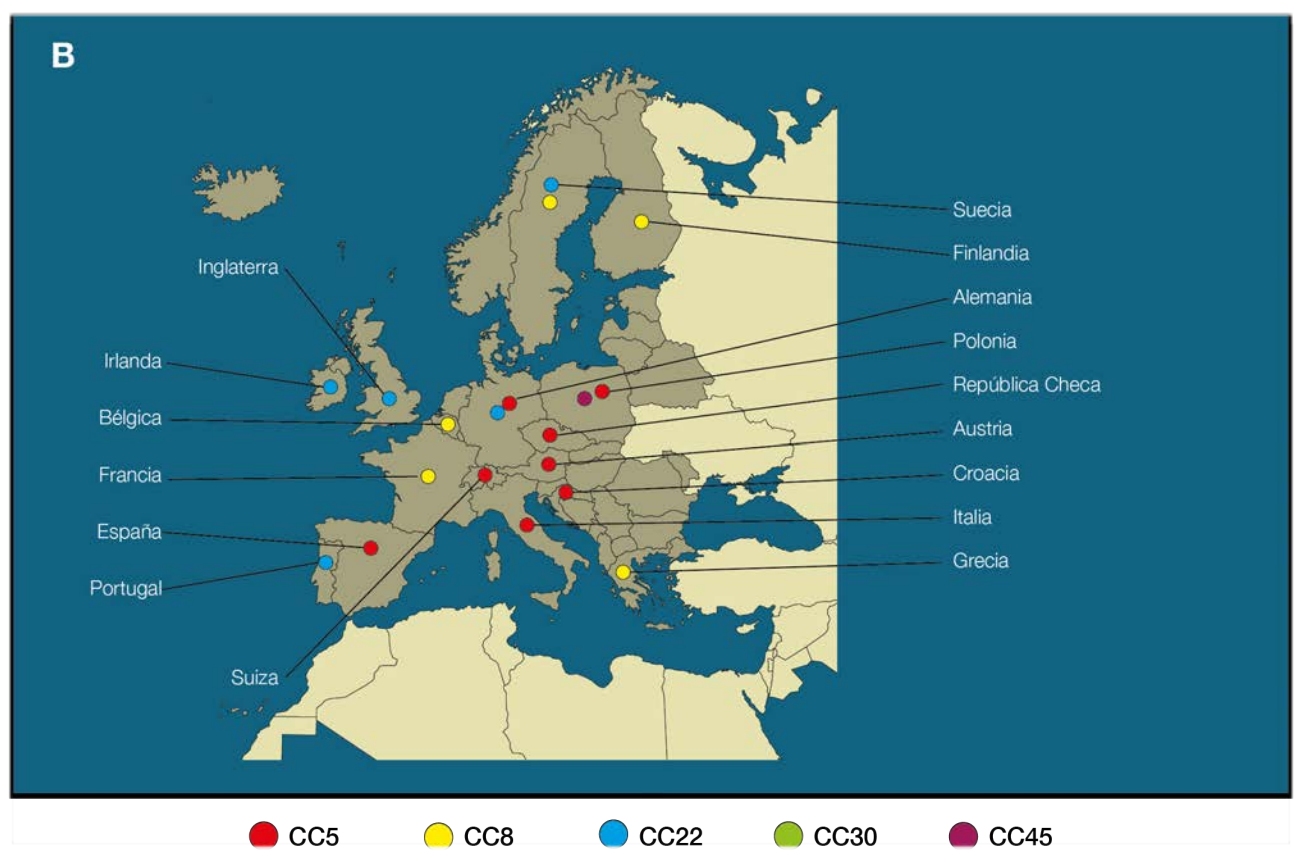
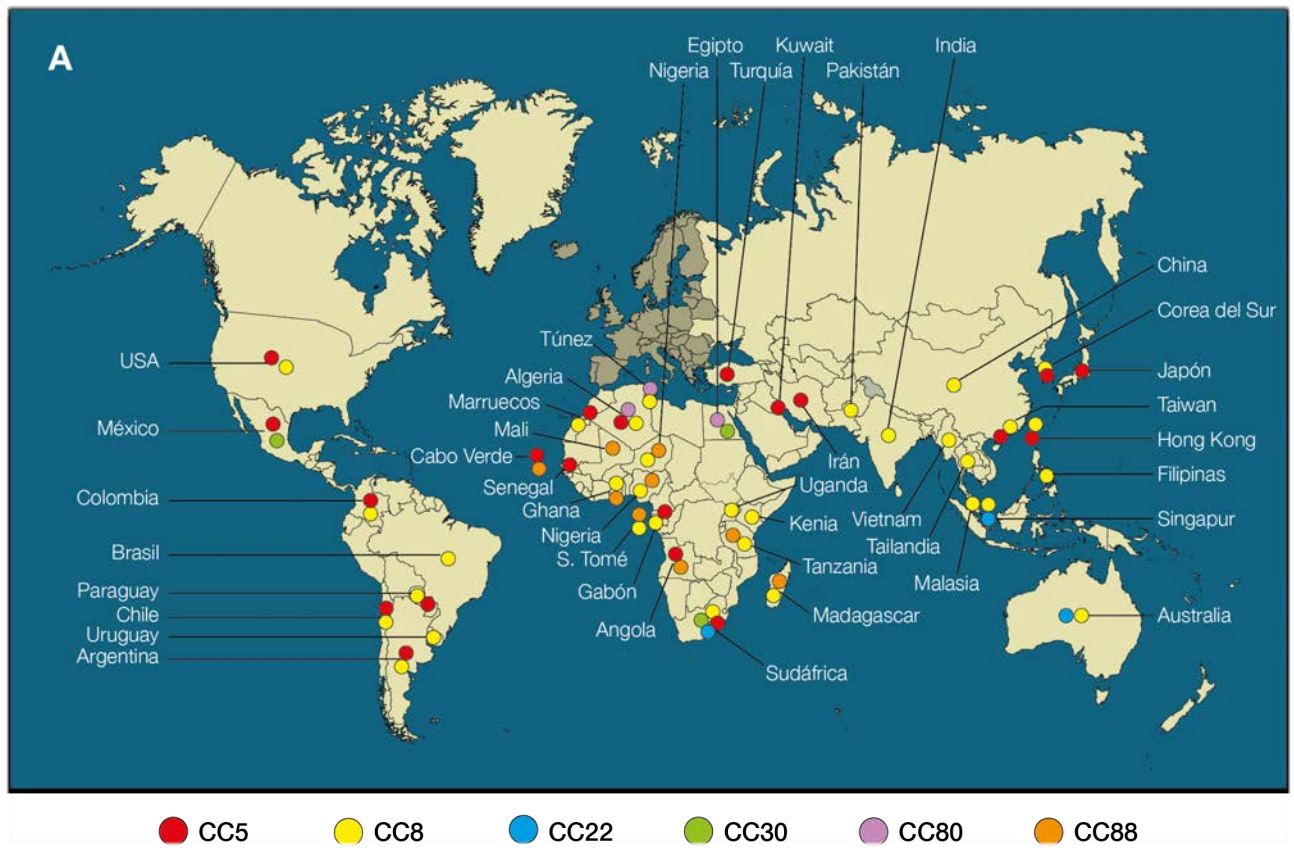


Figura 7. Líneas genéticas de SARM-AH mayoritarias a nivel mundial. Modificado de Aires de Sousa. Clin Microbiol Infect.2016

antecedente de infección por SARM-AH, historia de cirugía, hospitalización o residencia en algún centro sanitario en los 12 meses previos. En los países europeos con altas tasas de SARM-AH, como Italia o el Reino Unido, la mayoría de las infecciones por SARM adquiridas en la comunidad se producen en pacientes con factores de riesgo y son, de hecho, infecciones asociadas a la asistencia sanitaria (Rollason et al., 2008; Scudeller et al., 2000)

7.2 SARM asociado a la comunidad (SARM-AC)

Representan aquellos casos en los que se aísla SARM (infección/colonización) en un paciente ambulatorio o en las primeras 48 hs de ingreso hospitalario y sin factores de riesgo para SARM-AH o asociado a la asistencia sanitaria. El primer informe de SARM en el ámbito comunitario fue descrito en 1993 en Australia Occidental en pacientes aborígenes (Udo, 1993). Estas cepas de SARM se aislaron de individuos sanos, que tenían infecciones de piel y tejidos blandos, pero no poseían ningún factor de riesgo conocido para infección por SARM-AH. Posteriormente varios clones de SARM-AC se han extendido por todo el mundo desde los años noventa. En general, el SARM-AC es más virulento en comparación con el SARM-AH debido a la presencia de varios factores de virulencia especialmente la toxina de Panton-Valentine (Chambers, 2001; Etienne, 2005). El SARM-AC suele producir infecciones principalmente en piel, mucosas y otros tejidos blandos, y con menor incidencia, episodios de bacteriemias y otras patologías de carácter necrosante (Lo et al., 2009; Mediavilla et al., 2012). Estudios epidemiológicos han demostrado que los grupos de alto riesgo para el SARM-AC Incluyen niños, reclusos, soldados, atletas y centros de cuidado diurno, es decir, poblaciones y áreas de concentración donde el riesgo de la infección cruzada es alta (DeLeo et al., 2010).

Las líneas genéticas que han sido asociados de manera tradicional a infecciones por SARM de origen comunitario son: CC5, CC8, CC30, CC59 y CC80, diseminados principalmente por Europa y, sobre todo, Estados Unidos. (Enright et al., 2002; Stegger et al., 2014; Vandenesch et al., 2003). (Figura 8).

7.2.1 Propagación de SARM-AC en hospitales

Estudios recientes han demostrado la presencia de SARM-AC en los centros sanitarios especialmente en los Estados Unidos, pero también en otros países (Otter and French, 2011). La proporción de SARM-AH

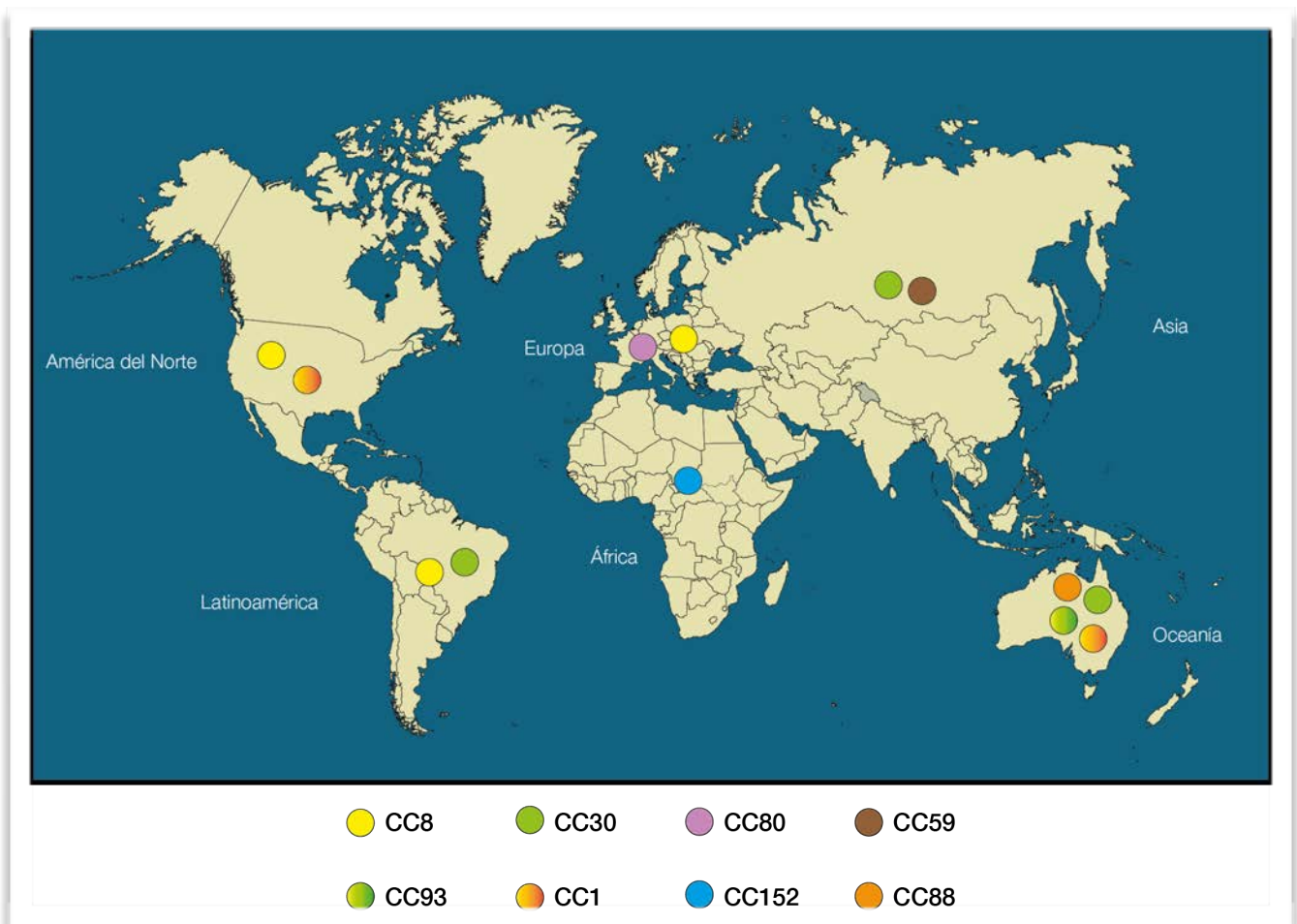


Figura 8. Líneas genéticas de SARM-AC mayoritarias a nivel mundial y por continente. Modificado de Aires de Sousa. Clin Microbiol Infect. 2016

aislados con SCCmec tipo IV (típico de SARM-AC) aumentó de menos de un 20% a más de un 50% entre 1999 y 2004 en un hospital de EE.UU. (Maree et al., 2007). Resultados similares fueron informados de un

hospital francés de 1992 a 2002, período durante el cual aumentó notablemente la incidencia de aislamientos de SARM-AH de SCCmec tipo IV susceptibles a gentamicina, sulfametoxazol y rifampicina (Donnio et al., 2004). Un trabajo reciente confirmó la migración de cepas de SARM que poseen SCCmec tipo IV de la comunidad al hospital en Italia. Estas cepas, a pesar de mostrar susceptibilidad a muchos antibióticos en comparación con los clásicos nosocomiales multirresistentes, habían adquirido algunos determinantes de resistencia (Campanile et al., 2012).

En el este de Asia, las cepas ST59 SCCmec tipo IV, ST30 SCCmec tipo IV y ST72 SCCmec tipo IV SARM-AC se han diseminado de la comunidad al hospital, mientras que las cepas ST239 (CC8) y ST5 se han movido en la dirección opuesta (Song et al., 2011).

Todos estos estudios demuestran claramente que las líneas genéticas son dinámicas y que cada vez resulta más difícil poder clasificarlas o asociarlas a un ámbito comunitario u hospitalario exclusivamente.

7.3 SARM asociadas al ganado (SARM-AG)

La primera descripción de infecciones por SARM en animales fue un caso de mastitis bovina en Bélgica a principios de los años setenta (Devriese et al., 1972). Posteriormente, fueron descritas un número cada vez mayor de infecciones y colonizaciones por SARM en animales, dejando claro que representan un importante patógeno veterinario y zoonótico. (Figura 9).

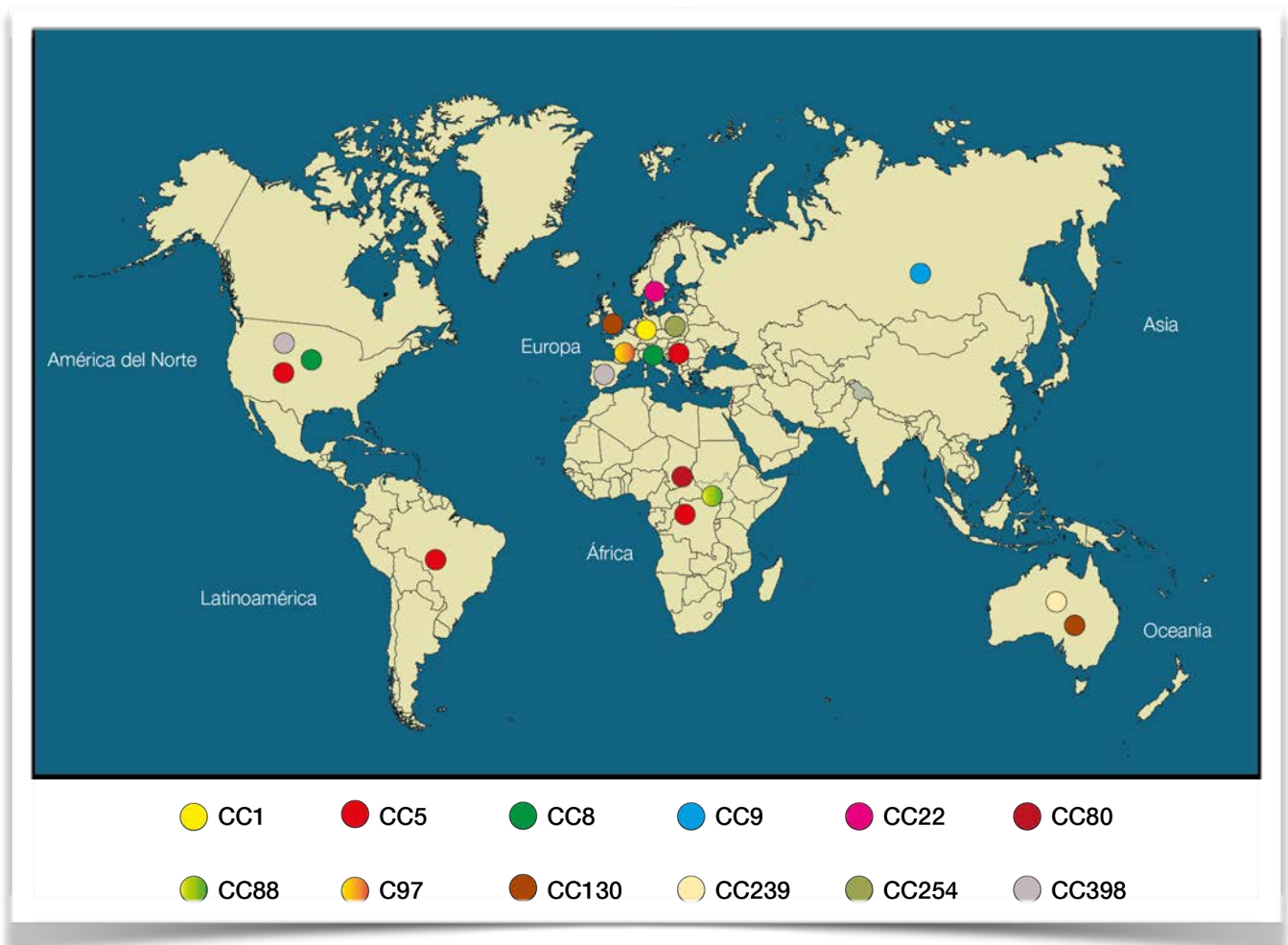


Figura 9. Líneas genéticas de SARM-AG mayoritarias a nivel mundial y por continentes. Modificado de Aires de Sousa.

El tipado molecular mostró que algunos linajes animales son específicos del huésped mientras que otros son capaces de colonizar o infectar una amplia variedad de animales incluyendo humanos. (Fitzgerald, 2012) (Figura 10).

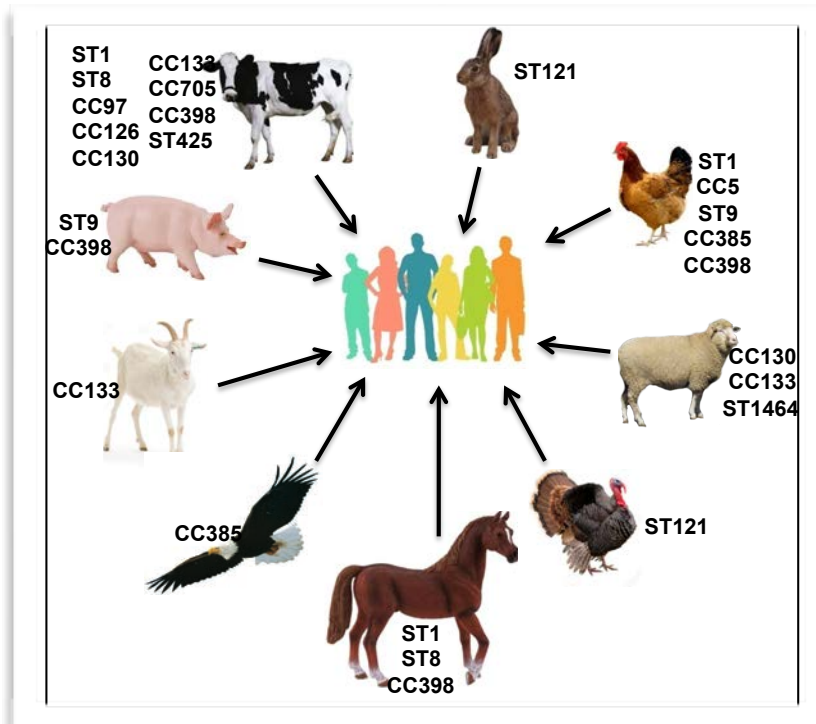


Figura 10. Complejos clonales y STs más prevalentes asociados a animales y sus especies hospedantes.

Modificado de: Fitzgerald J. Trends in Microbiology. 2012.

Asimismo las características clínicas y las claras diferencias tanto clínicas como epidemiológicas de los diferentes SARM según su adquisición o asociación se explican en la Tabla 3.

7.3.1 SARM-AG y *mecC*

Hasta hace muy pocos años, el gen *mecA* era el único determinante genético que confería resistencia a la meticilina en *S. aureus*. En el año 2011, mientras se realizaba un estudio epidemiológico de SARM en muestras de mastitis bovinas y tanques de leche de origen vacuno en Inglaterra, se encontró una cepa (LGA251) que contenía un nuevo determinante de resistencia a meticilina, el *mecALG251* (García-Álvarez et al., 2011), posteriormente denominando *mecC* (Paterson et al., 2014). Este gen sólo comparte la identidad de nucleótidos del 70% con *mecA*, no siendo detectado por los ensayos de PCR clásicos. La proteína codificada de PBP2a es sólo 63% idéntica al nivel de aminoácido al PBP2a original (codificado por el gen *mecA*) y por lo tanto no se detecta mediante pruebas comerciales basadas en anticuerpos tradicionales.

Por otra parte se ha determinado que la cefoxitina tiene mayor sensibilidad que la oxacilina para determinar su resistencia en test de difusión disco-placa (Skov et al., 2014).

El gen *mecC* forma parte de un nuevo SCC*mec* asignado al tipo XI. Los aislamientos pertenecientes a este nuevo elemento genético no son resistentes a los antibióticos distintos de los β -lactámicos contrastando con los aislamientos CC398 (resistentes a la tetraciclina). Los casos detectados hasta la fecha pertenecen principalmente a linajes comunes en el ganado, como CC130, CC1943 y CC425. lo que sugiere un reservorio zoonótico.

Características	SARM-AH	SARM-AC	SARM-AG
Líneas genéticas más prevalentes	CC5, CC8, CC2, CC30, CC45	CC1, CC8, CC30, CC59, CC80, CC88, CC93	CC1, CC9, CC97, CC130, CC133, CC398
SCC <i>mec</i>	I, II, III	IV, V, VI	IV, V
Virulencia	No LPV	LPV	No LPV
Fenotipo de resistencia	A menudo multirresistentes	Habitualmente resistentes a β -lactámicos	Multirresistentes. Resistente a tetraciclina (CC398)
Tipo de paciente	Ancianos, pluripatológicos, contacto habitual con Hospital, residencia de ancianos.	Niños y jóvenes, deportistas, personal militar, drogadictos, reclusos. Casi nulo contacto con el hospital y casi sin patología previa.	Jóvenes, escasa patología previa. Sin contacto con el hospital.
Factores de riesgo	Inmunodeprimidos, cirugía reciente, catéteres, hospitalización previa, Infección previa por SARM-AH, Institucionalizado.	Deportistas de contacto, reclusos, guarderías, drogadictos.	Granjero, trabajar con productos relacionados de animales de producción. Vivir cerca de granjas.
Transmisión	Contacto con el sistema sanitario, diseminación limitada. Rara transmisión familiar.	No contacto con el hospital. Fácil diseminación. Transmisión intrafamiliar frecuente.	No contacto con el hospital. Contacto con animales de granja. Diseminación limitada. Transmisión intrafamiliar frecuente.
Cuadro clínico	Infecciones invasivas: Bacteriemias. Infección de orina, asociadas a catéter.	Infecciones de piel y tejidos blandos. Neumonía necrotizante, bacteriemias, shock séptico.	Infecciones de piel y tejidos blandos, infecciones invasivas bacteriemias, endocarditis.

Tabla 3. Diferencias principales entre SARM-AC , SARM-AH y SARM-AG

Esta variante *mec* se han descrito en diferentes especies animales y en varios países europeos como Francia, Alemania, Reino Unido o Dinamarca (Paterson et al., 2014; Worthing et al., 2016).

Los aislamientos de SARM que transportan *mecC* están ampliamente distribuidos entre animales de vida silvestre y que viven en hábitats muy diversos (Becker et al., 2014). Recientemente, se ha detectado entre las aves, en una cigüeña blanca expuestos a los residuos humanos (Gómez et al., 2016) así como en ríos y en aguas residuales urbanas en España (Porrero et al., 2014). Mientras que en humanos se han detectado cepas de *mecC*-SARM CC130 en Austria, Bélgica, Dinamarca, Francia, Alemania, Irlanda, Países Bajos, Noruega, Eslovenia, España, Suecia, Suiza y Reino Unido (García-Álvarez et al., 2011; Garcia-Graells et al., 2012; Laurent et al., 2012; Petersen et al., 2013; Sabat et al., 2012; Shore et al., 2011; García-Garrote et al., 2014)

7.3.2 SARM-AG (SARM CC398)

El primer informe de SARM CC398 fue descrito en Francia en 2005, identificándose en cerdos (Armand-Lefevre et al., 2005). Posteriormente, se identificaron en varios países de Europa entre ellos los Países Bajos (Voss et al., 2005), Alemania, Italia, Dinamarca y España y finalmente en América del Norte, Asia (Smith and Pearson, 2011) y Africa (Lozano et al., 2016).

Para entender la aparición de SARM CC398 asociada con el ganado entre los seres humanos, Price et al. (2012) aplicó la tipificación de secuencia del genoma completo (WGST) a una diversa colección de aislamientos de *S. aureus* CC398 (n= 89), incluyendo SARM y SASM de animales y humanos que abarcaban 19 países y cuatro continentes. La filogenia basada en WGST encontrada en ese estudio sugiere fuertemente que el linaje CC398 se originó en seres humanos como SASM y luego se diseminó al ganado, donde posteriormente adquirió el casete *SCCmec* y la resistencia a meticilina. Estos datos sugieren que el SARM CC398 perdió los genes inmunomoduladores innatos humanos y adquirió resistencia a meticilina y tetraciclina después de la introducción al ganado. El gen de resistencia a la tetraciclina tet (M) fue casi universal entre las cepas de SARM CC398 y SASM asociadas con el ganado y desapareció por completo de las cepas asociadas a humanos. Los aislamientos de SARM CC398 encontrados en seres humanos que tienen contacto directo con el ganado exhiben los mismos patrones moleculares que las cepas asociadas al ganado. (Price et al., 2012)

Por otra parte el uso de tetraciclina en la producción animal de alimentos es probable que tenga una participación importante en la selección de cepas y es por eso que actualmente se considera un muy buen marcador de SARM CC398 (Benito et al., 2014; Lozano et al., 2013).

Las cepas de SARM CC398 tienen importantes características genotípicas y fenotípicas:

1. No son tipificables por PFGE utilizando Smal (Bens et al., 2006).
2. Muchos de ellos pertenecen a ST398 o ST estrechamente relacionados asociados con CC398 (van Loo et al., 2007).
3. Llevan *SCCmec* tipo IVa o V y son diferentes de los otros genotipos de SARM comúnmente encontrados en el entorno Hospitalario y comunitario (Li et al., 2011).
4. Presentan un mayor fenotipo de resistencia antibiótica a los no B lactámicos. Por ejemplo: Tetraciclina (100%), macrólido (70%), trimetoprim (65%), gentamicina (14%), ciprofloxacino (8%) y trimetoprim-sulfametoxazol (4%), , siendo algunos de ellos utilizados en la producción animal (Argudín et al., 2011).
5. La mayoría de los aislamientos carecen de toxinas como Pantón-Valentine leucocin (PVL) y otras enterotoxinas (Hallin et al., 2011).

En los cerdos y vacas, el SARM CC398 se ha extendido ampliamente, así estudios holandeses detectaron prevalencias en granjas de cerdos entre el 23% y el 81% (Broens et al., 2011a), mientras que en granjas de vacas, la prevalencia de las granjas estudiadas para SARM CC398 fue entre el 28% y el 88% (Graveland et al., 2010). Posteriormente el SARM CC398 fue identificado en aves de corral (pavos y pollos) (Mulders et al., 2010; Richter et al., 2012), y en caballos (Van Den Eede et al., 2009).

Estudios realizados en las explotaciones porcinas demostró una fuerte asociación entre los resultados de muestras de animales y muestras ambientales, lo que podría indicar también la posibilidad de propagación de SARM CC398 por vía aérea entre animales dentro de una granja (Schulz et al., 2012).

8. COLONIZACIÓN Y TRANSMISIÓN DE SARM CC398

En comparación con las infecciones debidas a SARM asociado al hospital o SARM adquirido en la comunidad, el SARM-AG (SARM CC398) no existe una diseminación uniforme, sino un aumento regional de este linaje en áreas con una alta densidad de ganado porcino (Feingold et al., 2012; Schaumburg et al., 2012).

8.1 Transmisión del SARM-CC398 de animales al humano

Las formas en que se transmite el SARM CC398 a los seres humanos son:

1. Contacto directo con los animales
2. Contaminación ambiental
3. Comer o manipular carne contaminada.
4. Desconocido

Los primeros estudios que investigaron la asociación de SARM CC398 en pacientes humanos con un reservorio en animales identificaron el ganado como fuente para el ser humano. Los portadores de SARM CC398 eran más a menudo personas que habían estado en contacto con cerdos o ganado que los portadores de otras cepas de SARM (Van Loo et al., 2007). La intensidad del contacto (van den Broek et al., 2009) y el vivir en un área con una importante densidad de cerdos se asoció fuertemente con el aumento de la prevalencia (Feingold et al., 2012). Además, otro estudio indicó que la proximidad a las granjas era un factor de riesgo potencial, incluso en ausencia de contacto directo entre seres humanos y animales (Van Cleef et al., 2010).

Por otra parte, un estudio realizado en mataderos en Holanda, observó que el personal con mayor probabilidad de ser portador de SARM eran los trabajadores que manipulaban el animal vivo y que a medida que la carne iba siendo procesada, estas probabilidades disminuían (B. A. G. L. Van Cleef et al., 2010)

Sin embargo, para un número sustancial de personas (40% o más) colonizadas o infectadas por SARM CC398, tanto el contacto con el ganado como otros factores de riesgo anteriormente mencionados, no fue

documentado (Benito et al., 2014) todo ello refuerza la teoría de una transmisión humano a humano como otra fuente de colonización. (Figura 11)

8.2 Transmisión de humano a humano por SARM CC398

Aunque se han llevado a cabo muchos estudios para examinar la colonización por MRSA CC398 en granjas y en personas que tienen contacto con animales, un número creciente de informes han demostrado que el SARM CC398 está presente en pacientes hospitalizados y en personas sin contacto conocido con animales vivos. El primer brote documentado de MRSA CC398 asociado al hospital ocurrió en los Países Bajos. Los autores encontraron cinco pacientes con colonización y / o infección por SARM CC398. Además, se encontró que 5 de 238 (2,1%) trabajadores de la salud estaban colonizados. Todas las cepas pertenecían a CC398 y eran de tipo spa t567 (Wulf et al., 2008). Aunque existen datos muy limitados de tasas de colonización en residencias de ancianos, un brote de SARM CC398 fue descrito en los Países Bajos. Se identificaron siete residentes y dos trabajadores sanitarios con SARM CC398. El caso índice había estado viviendo en una granja de cerdos antes de trasladarse a la residencia de ancianos. La cepa SARM CC398 responsable de este brote fue el spa-type t011 (Verkade et al., 2012).

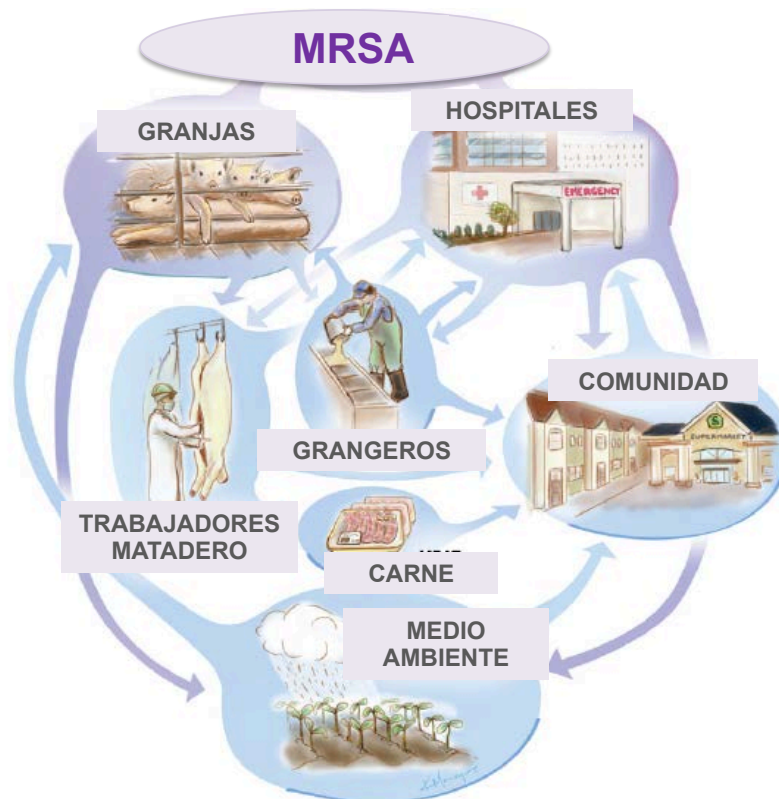


Figura 11. Ciclo de SARM-AG. Modificado de Smith TC. PLoS Pathog. 2015.

Existen algunos estudios que indican que el SARM CC398 podría haberse propagado a la población general. Así en un estudio se observó que más de un 25% de SARM CC398 no presentaban factores de riesgos habituales, lo que sugiere una propagación de SARM CC398, no por contacto directo con el ganado (cerdos, terneros), sino a través la comunidad (Lekkerkerk et al., 2012). Asimismo, cuando se analizó la tasa de colonización en la comunidad en el norte de España, ésta no alcanzó el 0.5% de los voluntarios estudiados (Lozano et al., 2011).

8.3 Características de los pacientes hospitalizados colonizados por SARM CC398

En general, los pacientes hospitalizados portadores de SARM CC398 difieren en muchas características de los pacientes que están colonizados o infectados con clásicos SARM-AH. Las características de estos pacientes son bastante similares a las de los pacientes afectados por SARM-AC. En un estudio realizado en Alemania compararon varias características clínicas y demográficas de los pacientes hospitalizados, colonizados por SARM CC398 vs no SARM CC398. Observaron que los pacientes portadores de SARM CC398 eran más jóvenes (edad media: 53 vs. 59 años), generalmente varones (70% vs. 57%), tenían una estancia hospitalaria más corta (7,5 vs 12,6 días) y menos frecuentemente tratados en unidades de cuidados intensivos (UCI) (12% vs. 17%) Menor comorbilidad y menor número medio de consultas médicas (Köck et al., 2011).

8.4 Infecciones por SARM CC398

El espectro clínico de las infecciones MRSA CC398 es tan amplio como se sabe para las infecciones por *S. aureus* en general. Se ha documentado infecciones por MRSA CC398, que van desde infecciones relativamente menores o localizadas, como infecciones de piel y partes blandas incluyendo abscesos (Pan et al., 2009), Infecciones de las vías urinarias (van Belkum, 2008), infecciones de las heridas (van Rijen et al., 2008), Mastitis (Huijsdens et al., 2006) y conjuntivitis (Grisold et al., 2010), así como infecciones más graves o invasivas, incluyendo bacteriemia (Valentin-Domelier et al., 2011), neumonía (van Rijen et al., 2008), neumonía necrotizante (Rasigade et al., 2010), osteomielitis (van Rijen et al., 2008), pyomyositis (Pan et al., 2009) e infecciones postoperatorias (Krziwanek et al., 2009).

8.5 SARM CC398 y síndromes estafilocócicos mediados por toxinas

Aunque la adquisición de *SCCmec* parece ser bastante común en el SARM CC398 (Pan et al., 2009; van Belkum, 2008), la transferencia de genes de toxinas estafilocócicas parece ser más rara. La mayoría de los aislamientos del linaje clon SARM CC398 no poseen las exotoxinas que causan síndromes de toxina estafilocócica, tales como superantígenos de toxinas pirogénicas y toxinas exfoliativas. Esto es válido en particular para las enterotoxinas estafilocócicas (SE) A, B, D y E clásicas, que no fueron detectadas en la mayoría de las cepas SARM CC398 (Hallin et al., 2011; Huber et al., 2011; Köck et al., 2013).

Hasta el momento, no se han descrito en la literatura casos, como el síndrome de shock tóxico estafilocócico, la intoxicación alimentaria por enterotoxina y el síndrome de piel escaldada estafilocócica asociados a SARM CC398.

Algunos informes describen la detección de los genes codificantes de leucociclina Pantón-Valentine (PVL) en cepas SARM CC398. La mayoría de los casos clínicos causados por PVL-positivo SARM CC398 son infecciones de la piel, principalmente abscesos y pertenecían mayoritariamente a la spa type t034 (Huijsdens et al., 2009; Welinder-Olsson et al., 2008).

Sin embargo, como los genes de toxina pueden estar presentes en elementos móviles tales como fagos o plásmidos, es posible que los aislamientos de CC398 puedan en un futuro adquirir tales genes.

9. TIPOS DE EXPLOTACIONES PORCINAS

Se pueden clasificar según el sistema de explotación como (BOE, 2000):

- **Sistemas extensivos:** aquellos en los que los animales se alimentan fundamentalmente en pastoreo.
- **Sistemas intensivos:** aquellos en los que alojan a sus animales en las mismas instalaciones donde se les suministra una alimentación a base de pienso compuesto, también incluye la explotación al aire libre denominada sistema camping o cabañas. Actualmente es el sistema por el que se producen la gran mayoría de la carne de cerdo que se consume en nuestro país.

También se clasifican en función del tipo de animales producidos y su situación en la cadena de producción en:

- **Granjas o Núcleos de Selección:** Se dedican a la producción de animales de raza pura o híbridos. Los reproductores utilizados en estas explotaciones tienen que estar inscritos en los libros genealógicos o en los registros oficiales correspondientes. Dentro de estas granjas podemos distinguir entre líneas de hembras donde suelen utilizarse las razas Large White o Landrace ya que presentan buenos rendimientos e índices de conversión, buena prolificidad y velocidad de crecimiento, que se las conoce como “abuelas”. Para las líneas de machos se suelen utilizar razas como la Pietrain o el Blanco Belga que poseen gran conformación.
- **Granjas de Multiplicación:** Se dedican a la multiplicación de razas o estirpes selectas, puras o híbridas procedente de explotaciones de selección. Su finalidad es obtener animales híbridos destinados a la reproducción, es decir, van a producir madres y verracos finalizadores que se utilizarán después para la producción de animales para matadero. Los reproductores utilizados deben estar inscritos en los registros oficiales correspondientes. Pueden trabajar con distintos esquemas de cruzamiento:

A. Esquema de dos razas: se usa donde la conformación no es importante.

B. Esquema a tres razas: se usa en países donde la conformación es importante, especialmente Francia, Bélgica y España. Aunque cada vez se extiende más su uso.

C. Esquema a cuatro razas: Se utiliza para evitar los problemas que producen los machos de elevada conformación que son muy sensibles al estrés, produciendo hembras y machos híbridos que otorguen mayor libido y rusticidad con una menor incidencia de estrés.

- **Granjas de Recría de reproductores:** Se dedican a la recría y/o engorde de lechones procedentes de una sola explotación de selección o multiplicación cuyo destino es la reproducción o marginalmente la fase de acabado o cebo.
- **Granjas de Transición de reproductoras primíparas:** Su función es la fertilización y comercialización de hembras primíparas como reproductoras gestantes.
- **Granjas de Producción:** Son las que se dedican a la producción de lechones para su engorde y sacrificio a partir de las reproductoras y machos finalizadores generados anteriormente. Pueden generar sus reproductores para autorreposición. Según el destino de los lechones estas explotaciones se subdividen en explotaciones de:
 - A. Ciclo cerrado o completo:** Todo el proceso productivo, nacimiento, cría, recría y cebo, tiene lugar en la explotación utilizando únicamente la producción propia.
 - B. Producción de lechones o Granjas de Cría:** Se decida sólo al nacimiento y cría hasta el destete para luego ser cebados en cebaderos autorizados.
 - C. Tipo mixto:** Envían parte de los lechones a recría y/o cebo en cebaderos autorizados.
- **Granjas de cebo o Cebaderos o de Engorde (Ciclo abierto):** Se dedican únicamente a realizar el cebo de los lechones procedentes de las granjas de producción hasta que alcanzan el peso de sacrificio (90-100 kg). En estas granjas no existen reproductores y todos los animales vienen de otras granjas como lechones.

10. COMARCA DE OSONA

10.1 Características de la Comarca y singularidades

La comarca de Osona está situada en la provincia de Barcelona (Catalunya, España) en el límite con la provincia de Girona. Esta comarca ocupa una extensión de 1245,2 km². La componen 50 municipios, algunos de gran extensión, como Oristá por ejemplo, con 68,88 km² que siendo el más extenso de la comarca tiene muy pocos habitantes; por el contrario, el más pequeño 0,97 km², Sant Hipolit de Voltregà que cuenta con muchos más habitantes que Oristá. Vic es la capital de la comarca, y se encuentra a unos 69 km de Barcelona. Según los últimos registros del Institut d'estadística de Catalunya (IdesCat) en la comarca de Osona viven aproximadamente unas 150.000 personas. (Figura 12).

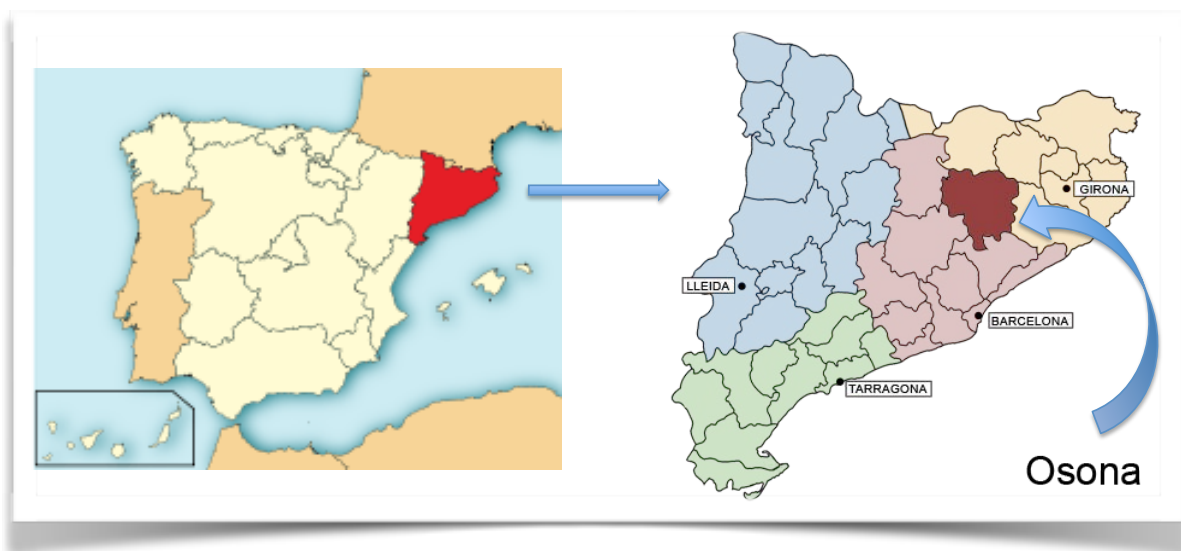


Figura 12. Localización de Catalunya dentro de España, así como la Comarca de Osona dentro de Catalunya.

10.2 Explotación porcina en España y Catalunya

Tanto en España como en Catalunya existe una fuerte tradición en la crianza y explotación porcina. En los últimos años, España se ha posicionado como el primer productor europeo y el tercer productor mundial de carne de cerdo, solo sobrepasado por China y EEUU. En la Figura 13 podemos ver la progresión que ha tenido España en los últimos años comparado con los mayores productores de cerdos de Europa.

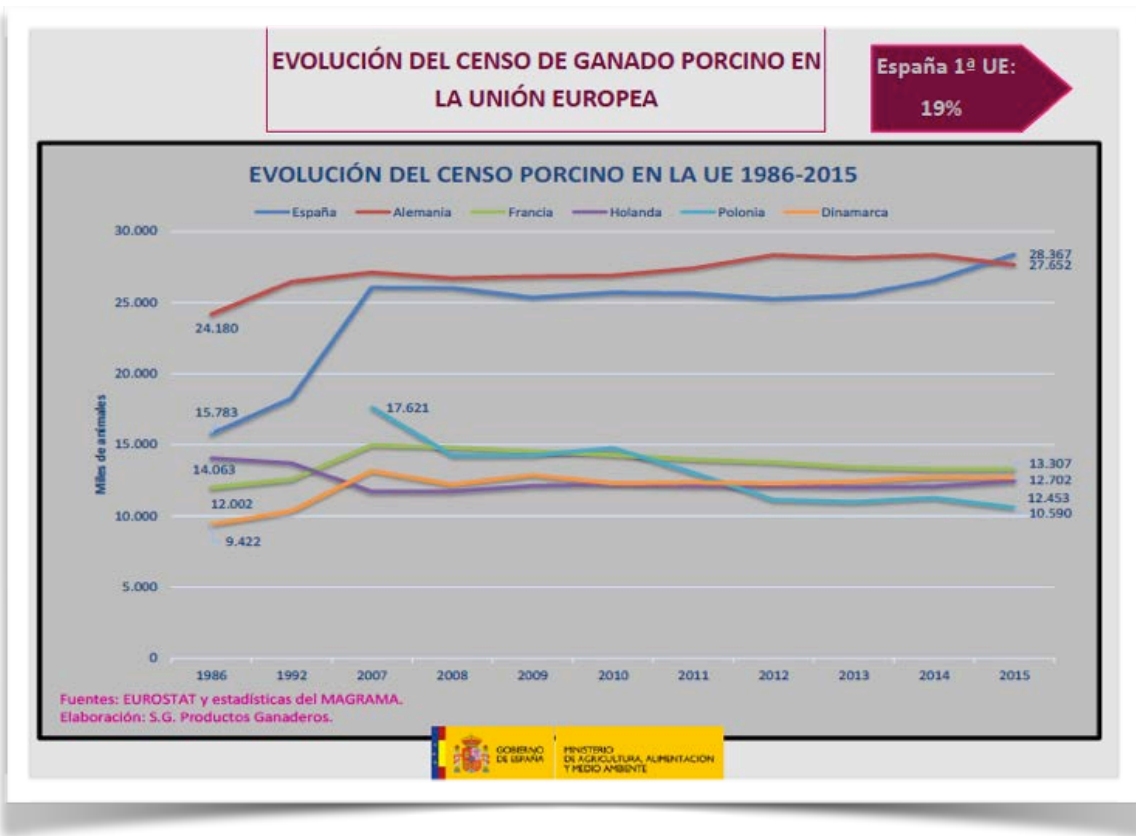


Figura 13. Evolución del censo porcino en la UE. Fuente: Ministerio de agricultura pesca y medio ambiente. www.mapama.gob.es

En Catalunya tradicionalmente la crianza porcina ha formado parte de una de las principales industrias comerciales de la región. Es por ello que actualmente es la comunidad autónoma con mayor producción de carne de cerdo, así como de explotaciones porcinas y de número de cabezas sacrificadas. En la **Figura 14** se observa con mayor detalles las diferentes regiones en número de animales y en la **Figura 15** la densidad de cerdos por Km2 en las diferentes comunidades autónomas.

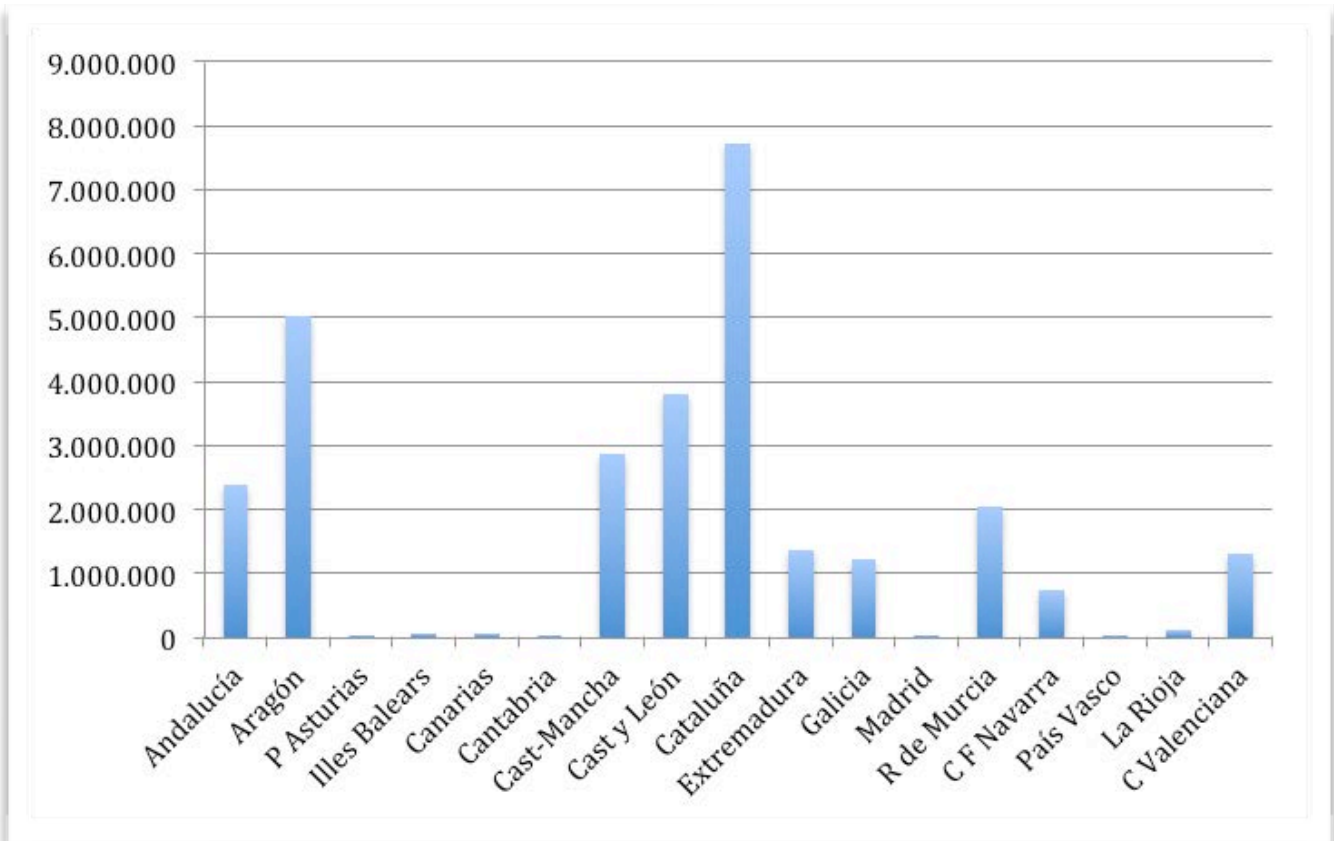


Figura 14. Distribución del censo total por comunidades autónomas (número de animales). Fuente: Ministerio de agricultura pesca y medio ambiente. www.mapama.gob.es

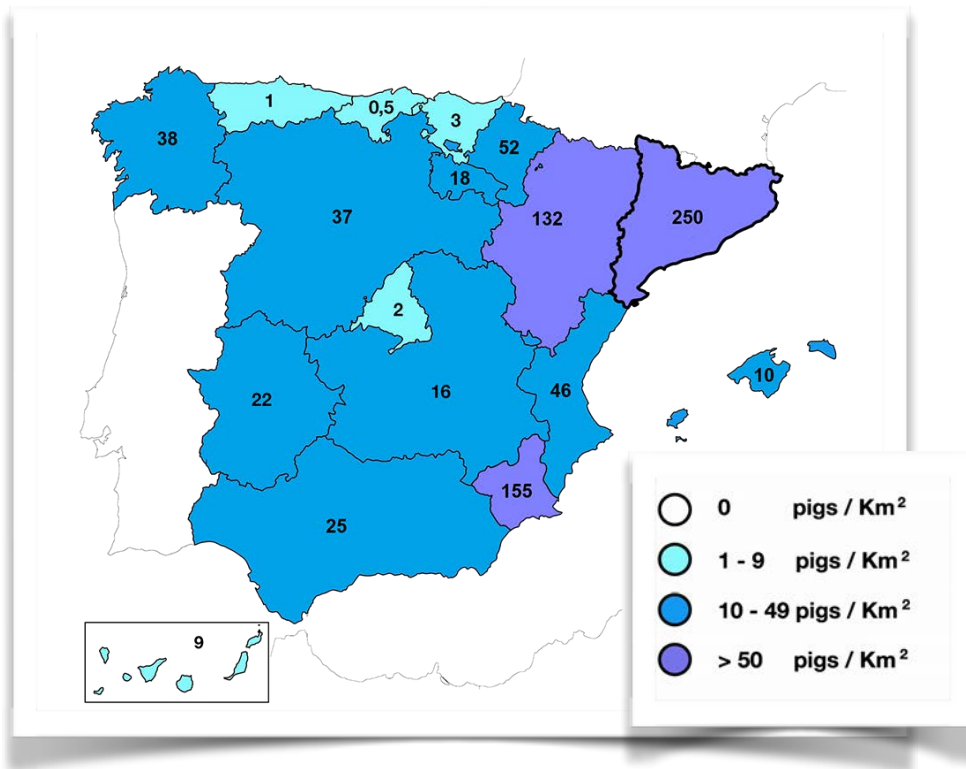


Figura 15. Densidad de Cerdos por Km² por comunidad autónoma. www.mapama.gob.es

Asimismo, en Catalunya, la distribución del ganado porcino según el último censo publicado se representa en la Tabla 4.

Provincias	Reproductores					
	Cochinillo	Cerdos < 50 kg	Cerdos de engorde	Machos	Cerdas	Total
Barcelona	661.553	332.484	721.585	1.181	206.689	1.923.492
Girona	222.281	268.404	402.686	525	80.460	974.356
Lleida	1.103.244	1.007.739	1.864.868	1.098	294.167	4.271.116
Tarragona	160.136	106.150	211.860	227	52.409	530.781
Total	2.147.213	1.714.778	3.200.999	3.030	633.726	7.699.746

Tabla 4. Cabezas de ganado porcino, 2015. Fuente: Institut d'Estadística de Catalunya, Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca i Alimentació.

La Comarca de Osona representa un papel importante dentro de ésta industria, y forma parte de las áreas de mayor densidad de cerdos de Catalunya y de España. Es la primera comarca en explotaciones porcinas y la tercera en plazas porcinas (**Figura 16 y Figura 17**)

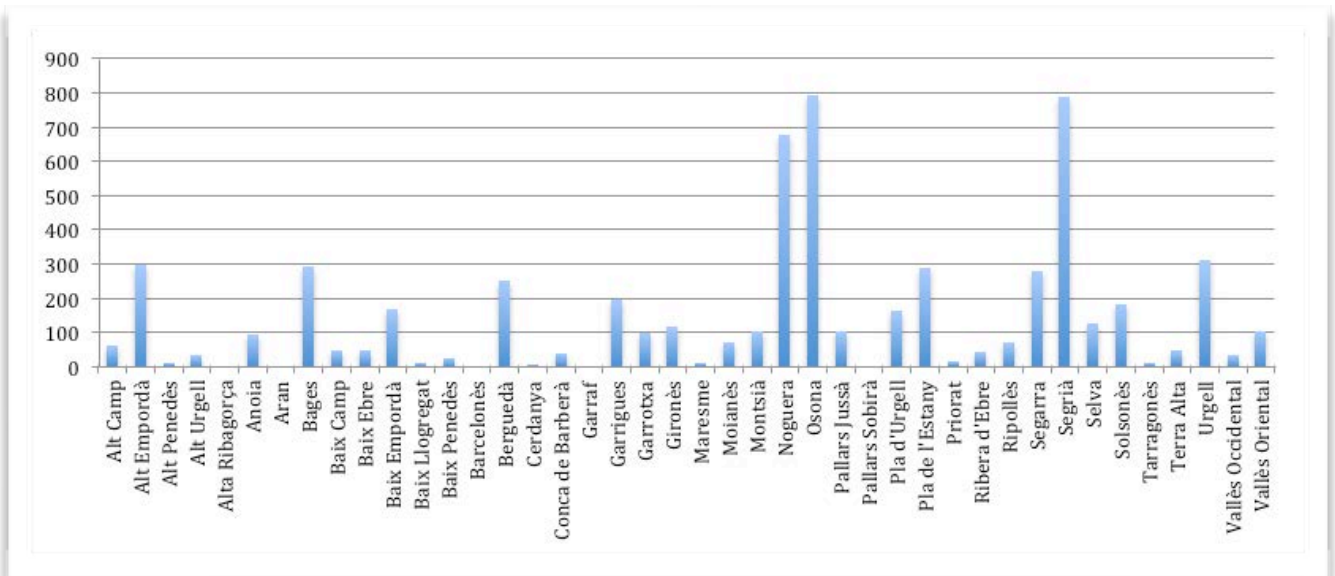


Figura 16. Número de Explotaciones porcinas por comarcas, 2015. Fuente: Institut d'Estadística de Catalunya. <https://www.idescat.cat/pub/?id=aec&n=454&lang=es>

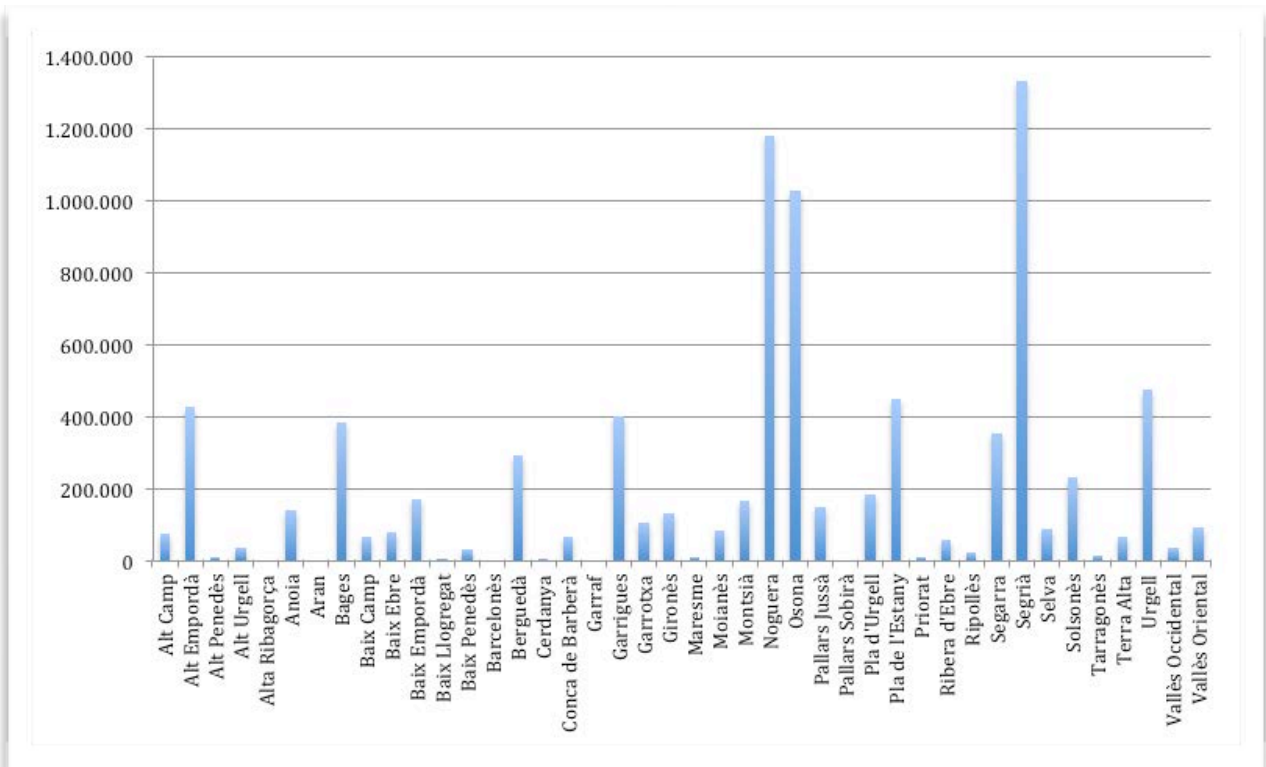


Figura 17. Plazas porcinas por comarcas, 2015. Fuente: Institut d'Estadística de Catalunya. <https://www.idescat.cat/pub/?id=aec&n=454&lang=es>

OBJETIVOS

1. Estudio de SARM ST398 en granjas de cerdos en la Comarca de Osona

- Conocer la Prevalencia de SARM ST398 en trabajadores de granjas de cerdos.
- Conocer la Prevalencia de SARM ST 398 en cerdos en 20 granjas de la comarca de Osona.

2. Estudio de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con SARM-Tet^R y SARM-Tet^S en el Hospital Universitari de Vic

- Conocer el Impacto clínico de las infecciones por SARM CC398.
- Valorar y conocer las diferencias clínicas y epidemiológicas entre SARM-Tet^R y SARM-Tet^S.
- Valorar y conocer las diferencias clínicas y epidemiológicas entre SARM-Tet^R CC398 y SARM-Tet^R no CC398.

3. Estudio de Prevalencia de SARM y SARM-Tet^R especialmente SARM CC398 en residencias de ancianos de la comarca de Osona

- Conocer las diferencias clínicas y epidemiológicas entre residentes colonizados por SARM y no colonizados.
- Valorar y conocer las diferencias clínicas y epidemiológicas entre residentes colonizados por SARM-Tet^R y SARM-Tet^S.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Estudio de SARM ST398 en trabajadores de granjas de cerdos y en cerdos en la comarca de Osona

Se realizó un estudio transversal de prevalencia en la comarca de Osona (provincia de Barcelona, Cataluña, noreste de España) entre los meses de junio de 2014 a junio de 2015.

1.1 Selección de Granjas, trabajadores y cerdos

El estudio fue presentado a los dueños de granjas de cerdos de la comarca de Osona a través de su asociación de negocios (Asociación Técnica de Salud de Porcinos), asegurándoles que la confidencialidad de los datos estaría protegida. No se requerían permisos oficiales, más allá del consentimiento informado del propietario de la finca, porque el estudio no implicaba animales en peligro o protegidos. La investigación fue aprobada por el comité de ética en el cuidado y el uso de los animales de la oficina regional de Osona del Departamento de Agricultura, Ganadería, Pesca, Alimentación y Medio Natural de la Generalitat de Catalunya, de acuerdo con la legislación europea en materia de cuidado animal (Granjas de cerdos) (Consejo de la UE, 2009). El proyecto también fue aprobado por el comité de ética de investigación de nuestra institución, el Hospital Universitari de Vic.

1.2 Trabajadores Participantes

Se estudiaron a todos los trabajadores de granjas de cerdos de un total de 83 granjas. Todos los trabajadores mayores de 18 años que estuvieron presentes en el momento de la visita fueron invitados a participar en el estudio, y todos los participantes firmaron los formularios de consentimiento informado. Se recogieron datos epidemiológicos sobre los participantes en el estudio (edad, sexo, nacionalidad, años de trabajo en granjas) y su historia clínica (hospitalizaciones previas y si presentaban contactos con el sistema de sanitario).

1.3 Cerdos y granjas

En cooperación con un veterinario de cerdos, se visitaban las granjas, se hablaba con los propietarios y trabajadores de las respectivas granjas para explicar los objetivos del estudio y el procedimiento de muestreo. Obtuvimos el consentimiento informado de los interesados en la participación y luego realizamos el procedimiento.

De las 83 fincas donde se estudió la colonización en granjeros, se seleccionaron 20 para el análisis de la colonización de SARM-ST398 en los cerdos. De tal manera que 9 de las granjas estudiadas fueron de engorde o ciclo cerrado (todos los cerdos tienen una edad comprendida entre el primer mes y los 6 meses de vida) y 11 granjas de ciclo abierto (los cerdos que se encuentran en las granjas tienen una edad comprendida entre los 6 meses a 6 años). Se seleccionaron veinte granjas teniendo en cuenta el tamaño de la población porcina en diferentes áreas de la Comarca. En una zona de más de 100.000 cerdos se seleccionaron 4 granjas, entre 50.000 y 99.999 cerdos se seleccionaron 5, en las zonas entre 10.000 y 49.999 cerdos fueron 9 granjas y en la zona entre 1.000 y 9.999 cerdos fueron 2 granjas. Las granjas seleccionadas tenían un mínimo de 180 cerdos y un máximo de 10.000 cerdos. Las granjas fueron seleccionadas mediante una aleatorización simple. Se analizaron diez cerdos por cada finca y se realizó un frotis nasal a cada cerdo. En cada finca, se tomaron muestras de uno o dos cerdos en cada cuadrilla, hasta que se recogió el número proporcional de muestras (Figura 18).

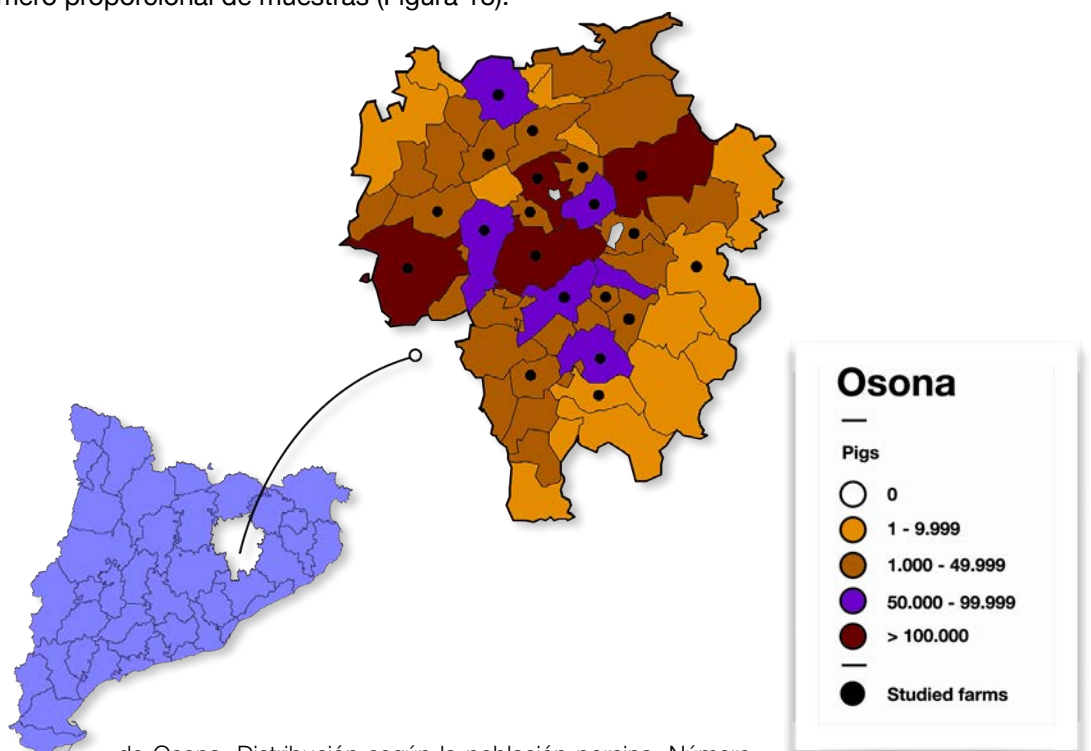


Figura 18. Comarca de Osona. Distribución según la población porcina. Número de cerdos por municipio y granjas analizadas.

1.4 Recolección y procesamiento de muestras

Se recogió un escobillón nasal de cada uno de los cerdos seleccionados y de ambas fosas nasales de cada trabajador de la granja participante. Para realizar el procedimiento en los animales, el veterinario utilizó un gancho para agarrar el hocico del cerdo, inmovilizar al animal y recoger la muestra. Después de recoger la muestra, se retiró el gancho para liberar el animal.

Todos los muestreos se realizaron con escobillones de algodón que se colocaron en medio de transporte (Stuart PS + Viscosa (Deltalab, Rubí, España)). Los escobillones fueron almacenados a 4° C y transportados directamente al laboratorio del Departamento de Microbiología del Hospital Universitario de Vic (Barcelona) para su análisis.

1.5 Aislamiento y caracterización de SARM

Las muestras se cultivaron sobre un agar cromógeno MRSA-Brilliance (Oxoid, PO5196A, UK), y los resultados se leyeron después de 48 horas. Las colonias sospechosas (verdes) se subcultivaron en medio de agar sangre (Oxoid, CM0055, UK). La identificación de la cepa se realizó mediante el sistema automatizado (biomerieux Vitek 2). Para la confirmación de los aislados de SARM, la susceptibilidad a oxacilina y cefoxitina se determinó mediante una prueba de difusión en disco (CLSI, 2014), y la presencia de la Penicilina Binding Protein 2a (PBP2a) se analizó mediante una prueba de aglutinación de látex con anticuerpos monoclonales específicos anti-PBP2 (Slidex® MRSA detection- Biomerieux). Todas las cepas con un fenotipo resistente a la oxacilina / cefoxitina fueron positivas para la PBP2a en la prueba de aglutinación y se incluyeron en este estudio.

Prueba de susceptibilidad a los antibióticos

Se realizó la prueba de susceptibilidad mediante el método de difusión en disco siguiendo las recomendaciones del Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) (CLSI, 2014). Los antibióticos probados fueron: penicilina (10 unidades), oxacilina (1 µg), eritromicina (15 µg), clindamicina (2 µg), gentamicina (10 µg), rifampicina (5 µg), tetraciclina (30 µg), tobramicina (10 µg) de trimetoprim sulfametoxazol (1,25 / 23,75 µg), ciprofloxacino (5 µg), linezolid (30 µg) y mupirocina (200 µg). La susceptibilidad a vancomicina y daptomicina se estudió mediante microdilución en caldo.

Una vez identificadas las cepas, se mantuvieron a -80°C y posteriormente se enviaron al Institut de Investigació Germans Trias i Pujol (IGTIP) (Badalona, Barcelona) para la biología molecular.

1.6 Tipado molecular mediante MLST

El tipado molecular se realizó mediante la técnica Multilocus Sequence Typing (MLST), según las directrices de la base de datos MLST (<http://saureus.mlst.net/>). Los pasos realizados, fueron: Extracción de ADN de las cepas de *S. aureus* en buffer de lisis (Lysozima, lisostafina en Chelex al 6% (Instagen Matrix, Biorad)), Cuantificación del ADN en nanodrop, Amplificación mediante PCR de 7 genes de *S.aureus*: *arc*, *aro*, *glp*, *gmk*, *pta*, *tpi* y *yqi* ., comprobación de la amplificación en un gel de agarosa al 2%, purificación del producto de PCR (Exosap-IT, USB), PCR de secuenciación (forward i reverse), precipitación del ADN secuenciado, secuenciación en equipo Genetic Analyzer (ABI PRISM). Las secuencias obtenidas se enfrentaron a las de referencia de la base de datos (<http://saureus.mlst.net/>) para obtener el alelo correspondiente de cada gen. El perfil MSLT se obtuvo de la combinación de los 7 alelos

1.7 Tipado de la región polimórfica del gen spa

Se caracterizaron genéticamente todas las cepas de SARM incluidas en este estudio según su tipo de *spa*. Para su realización se amplificó y secuenciación el fragmento variable de la región polimórfica del gen *spa*. Para el análisis de la región amplificada se utilizó el programa “RidomStaph-Type” versión 1.5.21 (RidomGmbH Münster, Alemania). Los tipos de *spa* fueron asignados de acuerdo con el servidor web de Ridom (<http://www.spaserver.ridom.de>) el cual de manera automática detecta las diferentes repeticiones y asigna un tipo de *spa*.

1.8 Análisis estadístico de los datos

El análisis estadístico se realizó con el software SPSS 21.0. Las variables categóricas se expresaron como frecuencia (%) y variables continuas como media \pm desviación estándar (DE). Las variables no distribuidas normalmente (verificadas por QQ Plot y Kolmogorov-Smirnov) se expresaron como mediana (rango intercuartílico).

La prevalencia de resultados positivos en SARM se estimó con un intervalo de confianza del 95% (IC). La significación estadística para las diferencias intergrupales se evaluó mediante el test de Chi cuadrado de Pearson o la prueba exacta de Fisher para las variables categóricas y la prueba *t* de Student o la prueba de U de Mann-Whitney para variables continuas, dependiendo de la distribución de la variable. Se configuró una curva de operador característico del receptor (ROC) para calcular un punto de corte con la mejor sensibilidad y especificidad para que el número de cerdos de cada granja se asocie con los resultados positivos del trabajador porcino. Se consideró estadísticamente significativo un valor *p* inferior a 0,05.

2. Estudio de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con SARM-Tet^R y SARM-Tet^S en el Hospital Universitari de Vic

Se realizó un estudio transversal de prevalencia, en la comarca de Osona, durante el período comprendido entre Enero de 2012 a Diciembre 2015.

2.1 Selección de los Pacientes

El Hospital Universitario de Vic (HUV) tiene una capacidad de 191 camas y da servicio a una población aproximada de 150.000 personas. El servicio de microbiología del HUV recibe todas las muestras de los centros de atención primaria de la comarca de Osona y de pacientes hospitalizados. Desde Enero de 2012 hasta Diciembre de 2015, se identificaron todos los pacientes que presentaban un cultivo positivo para SARM. Se incluyeron todos los pacientes con diagnóstico reciente de SARM y se excluyeron los pacientes ya identificados como portadores de SARM o infecciones previas por SARM. Fueron seleccionados los pacientes con infecciones y/o colonizaciones por SARM de reciente diagnóstico, así los que por antibiograma eran resistente a tetraciclina se agruparon en un grupo y los que eran sensible a tetraciclina, se agruparon en otro. Se estudiaron de cada paciente antecedentes personales, patológicos, lugar de adquisición (extrahospitalaria / intrahospitalaria), tipo de adquisición (infección / colonización), tipo de infección, contacto con granjas, presencia o no de úlceras en la piel, toma de antibióticos durante los últimos 6 meses antes del diagnóstico, ingresos hospitalarios como mínimo 1 ingreso durante los últimos 12 meses y la mortalidad a los 30 días y a los 6 meses del momento del diagnóstico.

A cada paciente se realizó un cuestionario mediante una entrevista personal o en el caso de no estar ingresado o de no poder acudir a la entrevista, el interrogatorio se realizó por vía telefónica. Cada paciente firmó el consentimiento informado y en el caso de no poder un representante de la familia. El proyecto fue presentado y aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitari de Vic.

2.2 Procesamiento de las muestras

Las muestras para este estudio fueron realizadas en los Centros de Atención Primaria que abarcan la comarca de Osona y en el Hospital Universitari de Vic. Una vez realizada la obtención de la muestra (frotis nasal, esputo, frotis úlcera, broncoaspirado, Hemocultivos, etc) se enviaron al servicio de microbiología del Hospital de Vic para su procesamiento e identificación del microorganismo.

2.3 Aislamiento y caracterización de SARM

Las muestras se cultivaron sobre un agar cromogénico MRSA-Brilliance (Oxoid, PO5196A, UK), y los resultados se leyeron después de 48 horas. Las colonias sospechosas (verdes) se subcultivaron en medio de agar sangre (Oxoid, CM0055, UK). La identificación del organismo se realizó mediante sistema automatizado (biomerieux Vitek 2). Para la confirmación de los aislados de SARM, la susceptibilidad a oxacilina y cefoxitina se determinó mediante una prueba de difusión en disco (CLSI, 2014), y la presencia de la Penicilina Binding Protein 2a (PBP2a) se analizó mediante una prueba de aglutinación de látex con anticuerpos monoclonales específicos anti-PBP2 (Slidex® MRSA detection- Biomerieux). Todas las cepas con un fenotipo resistente a la oxacilina / cefoxitina fueron positivas para la PBP2a en la prueba de aglutinación y se incluyeron en este estudio.

La prueba de susceptibilidad a los antibióticos se llevó a cabo por el método de difusión de disco siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2014). Los antibióticos probados fueron los siguientes: penicilina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, gentamicina, rifampicina, tetraciclina, tobramicina, trimetoprim sulfametoxazol, ciprofloxacino, linezolid y mupirocina. La susceptibilidad a la vancomicina y la daptomicina se estudió mediante el método de microdilución en caldo.

Una vez identificadas las cepas, se mantuvieron a -80°C y posteriormente se enviaron al IGTIP (Badalona, Barcelona) para la biología molecular.

2.4 Tipado molecular

Multilocus sequence typing (MLST): Todas las cepas aisladas e identificadas como SARM-Tet^R fueron analizadas de acuerdo con las guías de MLST (<http://saureus.mlst.net/>) y de la forma anteriormente explicada.

spa typing: Todas las cepas aisladas e identificadas como SARM-Tet^R fueron caracterizadas por spa typing, como se describió anteriormente, utilizando el software Ridom StaphType, versión 1.4 (Ridom GmbH Münster, Alemania). Los tipos de spa fueron asignados de acuerdo con el servidor web de Ridom (<http://www.spaserver.ridom.de>).

2.5 Análisis estadístico de los datos

En el análisis estadístico, para las variables cuantitativas que eran de distribución normal se describieron las media y las desviaciones estándar (DE). Para las variables cualitativas se calcularon las frecuencias absolutas y los porcentajes. La prueba de χ^2 o Test de Fisher y la *t*-Student se utilizaron para comparar las características sociodemográficas y clínicas entre los pacientes que presentaron resistencia y los que no. La significancia estadística fue considerada cuando el valor de *p* fue menor a 0,05.

Para identificar los factores asociados a la resistencia se realizó una regresión logística univariado y posteriormente con los factores asociados univariados la resistencia se realizó una regresión logística multivariante ($p < 0,10$). A través de estos análisis se calcularon los odds ratios (ORs) con un intervalo de confianza del 95%. Para realizar el análisis estadístico se ha utilizado el programa IBM SPSS Statistics 21.0.

3. Estudio de Prevalencia de SARM y SARM-Tet^R especialmente SARM CC398 en residencias de ancianos de la comarca de Osona

Se realizó un estudio prospectivo desde enero de 2015 hasta julio de 2015. Se estudiaron seis residencias de ancianos en diferentes localizaciones dentro de la comarca de Osona (Barcelona, España).

3.1 Selección de las personas para el estudio

Se seleccionaron 6 residencias de ancianos en diferentes zonas o municipios de la Comarca de Osona. Los municipios de las residencias estudiadas fueron: Manlleu, Vic, Taradell, Torelló, L'Esquirol y Prats de Lluçanes. Se analizó 1 residencia por cada zona estudiada.

A cada residente de cada residencia se realizó un cuestionario precisando las características epidemiológicas (edad, año de ingreso a la residencia, si sale de la residencia o no, si tiene contacto con familiares o contacto directo con granjas de cerdos, utilización de antibióticos durante el último año y últimos seis meses, ingresos hospitalarios en el último año), se analizaron también comorbilidades, Índice de Barthel y deterioro cognitivo. Se completó un cuestionario para cada residente durante una entrevista personal o a su familia o representante legal. Se compararon los residentes colonizados por SARM y los no colonizados. Los residentes colonizados por SARM, se dividieron en dos grupos según la sensibilidad o resistencia a la tetraciclina y se compararon ambos grupos.

El proyecto fue presentado y aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitari de Vic y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de cada sujeto al inscribirse en la cohorte.

3.2 Procesamiento de las muestras

Una vez realizada la obtención de la muestra (frotis nasal) se enviaron al servicio de Microbiología del Hospital de Vic para su procesamiento e identificación del microorganismo.

3.3 Aislamiento y caracterización de SARM

Las muestras se cultivaron sobre un agar cromógeno MRSA-Brilliance (Oxoid, PO5196A, UK), y los resultados se leyeron después de 48 horas. Las colonias sospechosas (verdes) se subcultivaron en medio de agar sangre (Oxoid, CM0055, UK). La identificación del organismo se realizó mediante sistema automatizado (biomerieux Vitek 2). Para la confirmación de los aislados de SARM, la susceptibilidad a oxacilina y cefoxitina se determinó mediante una prueba de difusión en disco (CLSI, 2014), y la presencia de la Penicilina Binding Protein 2a (PBP2a) se analizó mediante una prueba de aglutinación de látex con anticuerpos monoclonales específicos anti-PBP2 (Slidex® MRSA detection- Biomerieux). Todas las cepas con un fenotipo resistente a la oxacilina / cefoxitina fueron positivas para la PBP2a en la prueba de aglutinación y se incluyeron en este estudio.

La prueba de susceptibilidad a los antibióticos se llevó a cabo por el método de difusión de disco siguiendo las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2014). Los antibióticos probados fueron los siguientes: penicilina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, gentamicina, rifampicina, tetraciclina, tobramicina, trimetoprim sulfametoxazol, ciprofloxacino, linezolid y mupirocina. La susceptibilidad a la vancomicina y la daptomicina se estudió mediante el método de microdilución en caldo.

Una vez identificadas las cepas, se mantuvieron a -80 ° C y posteriormente se enviaron al IGTIP (Badalona, Barcelona) para la biología molecular.

3.4 Tipado molecular

Multilocus sequence typing (MLST): Todas las cepas aisladas e identificadas como SARM-Tet^R fueron analizadas de acuerdo con las guías de MLST (<http://saureus.mlst.net/>) y de la forma anteriormente explicada.

spa typing: Todas las cepas aisladas e identificadas como SARM-Tet^R fueron caracterizadas por spa typing, como se describió anteriormente, utilizando el software Ridom StaphType, versión 1.4 (Ridom GmbH Münster, Alemania). Los tipos de spa fueron asignados de acuerdo con el servidor web de Ridom (<http://www.spaserver.ridom.de>).

3.5 Análisis estadístico de los datos

En el análisis estadístico, para las variables cuantitativas de distribución normal, se describió la desviación estándar (DE). Para las variables cualitativas se calcularon las frecuencias absolutas y los porcentajes. La prueba χ^2 y la prueba *t*-Student se utilizaron para comparar características sociodemográficas y clínicas entre pacientes en los que se encontró SARM y los pacientes que no se encontró SARM. Asimismo se compararon los grupos en donde se aisló SARM-Tet^R y aquellos en los que se aisló SARM-Tet^S. Se consideró que existía significación estadística cuando el valor de *p* era menor que 0,05. Para el análisis estadísticos se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 23.0.

RESULTADOS

1. Estudio de SARM ST398 en granjas de cerdos en la comarca de Osona

1.1 Prevalencia en los trabajadores de granjas de cerdos y características epidemiológicas

Ciento cuarenta trabajadores de 83 granjas de cerdos fueron estudiados, siendo un 57,9% (IC del 95%: 50,0%-66,4%) positivos (81/140) para SARM, todos ellos identificados como SARM ST398. La edad media de los granjeros fue de $44,9 \pm 13,8$ (rango: 19-80), siendo la mayoría hombres (94,3%). Sólo uno de los granjeros era inmigrante (de Gambia); Ninguno había sido hospitalizado o había tomado antibióticos en el último año antes del estudio. En solo 9 granjeros se detectó alguna enfermedad previa, el resto de los participantes no tenían antecedentes de interés. El número medio de años de trabajo en las granjas fue de $17,5 \pm 12,6$ (rango: 1-50), sin diferencias significativas entre los sujetos negativos para SARM y los sujetos con SARM positivos ($17,1 \pm 12,5$ frente a $17,8 \pm 12,7$; $p = 0,763$) (Tabla 5).

	MRSA ST398			Valor de la p^a
	Total	Positivos	Negativos	
GC [n, (%)]	140	81 (57.9)	59 (42.1)	na
Edad [media, (DS)]	44.9 (13.8)	44.4 (13.2)	45.5 (14.7)	0.631 ^b
Varón [n, (%)]	132 (94.3)	75 (92.6)	132 (94.3)	0.467 ^c
Años trabajados [mean, (SD)]	17.5 (12.6)	17.8 (12.7)	17.5 (12.6)	0.763 ^b
Historial médico [n, (%)]	9 (6)	5 (6.2)	9 (6)	1.000 ^c
Tratamiento ATB %	0	0	0	na
Contacto Hospital %	0	0	0	na
Nº Cerdos	1200 (700-3000)	1500 (1050-4300)	1000 (300-1300)	< 0.001 ^d
Granjeros CA	69 (49.3)	38 (46.9)	31 (52.5)	0.511 ^e
Granjeros CC	71 (51.7)	43 (53.1)	28 (47.5)	

GC: Granjeros de cerdos. ATB: Antibiótico en el último año. H: Contacto hospital último año. CA: Ciclo Abierto. CC: Ciclo Cerrado. na: No Aplicable. a) Nivel de significancia: $p < 0.05$. b) t de Student. c) Test exacto de Fisher. d) Mann-Whitney U. e) chi-cuadrado de Pearson.

Tabla 5. Características epidemiológicas de los granjeros de cerdos analizados

Hubo un mayor número de cerdos en las granjas donde los trabajadores dieron positivo para SARM-ST398 (1500 [1050-4300] frente a 1000 [300-1300]; $p < 0,001$) (Figura 19). Se encontró que un punto de corte de 1250 cerdos por granja era el mejor discriminador entre las granjas con trabajadores que daban resultados positivos y negativos para SARM-ST398. Por lo tanto, el porcentaje de ganaderos que trabajaban en granjas con más de 1250 cerdos y que dieron positivo en ST398 de MRSA fue significativamente más alto que aquellos que trabajaron en granjas con menos de 1250 cerdos (75,8% vs 41,9%, $p < 0,001$)

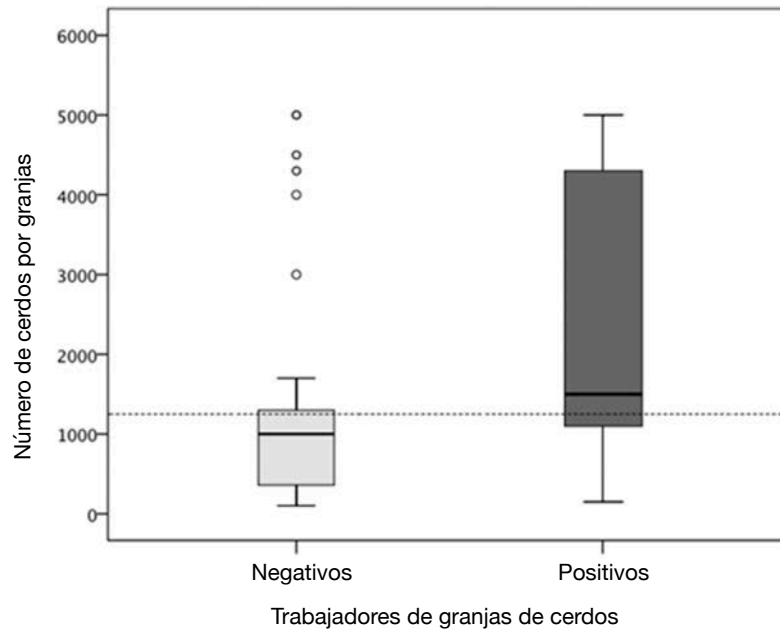


Figura 19. Relación entre granjeros colonizados por SARM ST398 y el número de cerdos por granjas

Se detectaron ocho diferentes tipos de *spa* entre los 81 aislamientos SARM ST398 obtenidos de los trabajadores de granjas: t101 (68%), t108 (6%), t034 (6%), t1451 (7%), t1197 (5%), t1456 (4%), t2346 (3%) y t943 (1%). La Tabla 6 muestra la correlación de los fenotipos de resistencia a los antibióticos con los tipos de *spa* en los granjeros de cerdos que fueron SARM ST398 positivos, así como el número de granjas en las que se detectó cada tipo de *spa*.

Spa types aislados	N	GC (+) /C	% de resistencia a antibióticos no β -lactámicos						
			TET	ERY	CLI	CIP	GEN	TOB	TMP
t011	55	13/55	100	90,9	100	34,5	27,2	18,1	25,4
t1456	3	3/3	100	100	100	100	0	0	0
t1451	6	6/6	100	100	100	100	0	33,3	16,6
t108	5	4/5	100	100	100	60	0	20	60
t943	1	1/1	100	100	100	100	0	0	0
t1197	4	3/4	100	75	100	100	25	25	75
t034	5	4/5	100	80	100	60	0	60	40
t2346	2	2/2	100	100	100	0	0	0	0

Antimicrobianos: TET, tetraciclina; ERY, eritromicina; CLI, clindamicina; GEN, gentamicina; CIP, ciprofloxacina; TMP, trimetoprim-sulfametoxazol, TOB, tobramicina.

N: Número.GC(+): Granjeros de cerdos positivos / G: Granjero de cerdo.

Tabla 6. Características de los 81 SARM ST398 detectados en los 140 granjeros de cerdos (GC) de 83 granjas analizadas

1.2 Prevalencia en cerdos y correlación con aislamientos de granjeros

Veinte de las 83 fincas de cerdos fueron seleccionadas para el análisis de la colonización de SARM ST398 en cerdos y para determinar la correlación con los resultados en los agricultores correspondientes. Para ello se analizaron muestras de 200 cerdos de estas 20 granjas (101 cerdos de engorde y 99 cerdas). Noventa y dos de los animales (46% (IC 95%: 39% -53%)) fueron positivos para SARM, todos ellos ST398 (41,4% en cerdos de engorde y 50,5% en cerdas; $p = 0,198$). El porcentaje de resultados positivos en las granjas de ciclo abierto (engorde) fue similar al porcentaje de resultados positivos en las granjas de ciclo cerrado (43,3% frente a 48,2%; $p = 0,494$). La mediana de cerdos por finca fue de 1.525 (rango intercuartil: 1.125-4.500) con un mínimo de 180 y un máximo de 10.000 cerdos. De las 20 granjas de cerdos seleccionadas para el análisis de los granjeros y los cerdos, en todas se identificaron trabajadores colonizados con SARM-ST398.

Las cepas SARM ST398 recuperadas de cerdos presentaron 7 diferentes tipos de spa: t011 (71%), t034 (8%), t2346 (2%) t108 (11%), t1197 (1%), t1456 (6%) y t1451 (1%). La **Tabla 7** muestra los resultados de los aislados SARM ST398 de cerdos y agricultores de las 20 fincas, incluyendo la distribución de los tipos de spa y los fenotipos de resistencia antimicrobiana. En la mayoría de las granjas (19/20), fue posible detectar SARM ST398 con un tipo similar de spa y fenotipo de resistencia a antibióticos en cerdos y granjeros. La mayoría de las cepas SARM ST398 presentaron un fenotipo multirresistente (resistencia de al menos tres familias diferentes de antibióticos), incluyendo en todos los casos resistencia a la tetraciclina.

N Granja / N de cerdos	Ganaderos de Cerdos			Cerdos			Resistencia antibiótica
	Pos/Total	MLST	spa type	Pos/Total	MLST	spa type	Fenotipo de resistencia para no β -lactámicos
(*) Granja 1 / 4500	3/3	398	t011	3/10	398	t011	TET, GEN, TOB, CLI, ERY, TMP
				1/10	398	t011	TET, GEN, TOB, CLI, ERY
(*) Granja 2 / 1200	1/4	398	t011	1/10	398	t011	TET, TOB, CLI, ERY, CIP, TMP
	1/4	398	t011	3/10	398	t011	TET, CIP, TMP
(**) Granja 3 / 180	1/1	398	t034	5/10	398	t034	TET, TOB, CLI, CIP
(*) Granja 4 / 800	2/2	398	t011	4/10	398	t011	TET, CLI, ERY
(*) Granja 5 / 1500	1/1	398	t011	4/10	398	t011	TET, CLI, ERY, TMP
(**) Granja 6 / 2000	1/1	398	t011	4/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP
(*) Granja 7 / 1700	3/8	398	t011	1/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP
	1/8	398	t011	1/10	398	t011	TET, CLI, ERY, GEN, TOB, TMP
	2/8	398	t034	2/10	398	t034	TET, CLI, ERY, CIP, TOB, TMP
	1/8	398	t1451				TET, CLI, ERY, CIP, TOB, TMP
(*) Granja 8 / 1300	1/2	398	t2346	2/10	398	t2346	TET, CLI, ERY
	1/2	398	t108	2/10	398	t108	TET, CLI, ERY, TOB, TMP
(*) Granja 9 / 340	1/1	398	t011	7/10	398	t011	TET, CLI, ERY
(**) Granja 10 / 5000	1/3	398	t011	4/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP, TOB, TMP
	1/3	398	t1197	1/10	398	t1197	TET, CLI, ERY, CIP, TMP
(*) Granja 11 / 2700	1/1	398	t011	4/10	398	t011	TET, CLI, ERY

N Granja / N de cerdos	Granjeros de Cerdos			Cerdos			Resistencia antibiótica
	Pos/ Total	MLST	spa type	Pos/ Total	MLST	spa type	Fenotipo de resistencia para no β -lactámicos
(**) Granja 12 / 1550	1/1	398	t011	5/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP, TOB, TMP
(*) Granja 13 / 5000	1/1	398	t1197	1/10	398	t1197	TET, CLI, CIP, TOB
				3/10	398	t1456	TET, CLI, ERY
(**) Granja 14 / 5000	1/1	398	t1451	1/10	398	t1451	TET, CLI, ERY, CIP, TOB
				2/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP
				1/10	398	t1456	TET, CLI, ERY
(**) Granja 15 / 600	1/1	398	t011	4/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP, TMP
(**) Granja 16 / 1200	1/1	398	t011				TET, CLI, ERY, CIP
				4/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP, TOB
(*) Granja 17 / 10000	2/5	398	t011				TET, CLI, ERY, CIP, TMP
	1/5	398	t1451				TET, CLI, ERY, CIP
	2/5	398	t108	8/10	398	t108	TET, CLI, ERY, TOB, TMP
(**) Granja 18 / 1300	2/4	398	t011	2/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP
	1/4	398	t011	1/10	398	t011	TET, CLI, ERY
	1/4	398	t011	2/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP, TMP
(**) Granja 19 / 1500	1/4	398	t011	1/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP
	1/4	398	t011	2/10	398	t011	TET, CLI, ERY, CIP, GEN, TOB, TMP
	1/4	398	t1451	1/10	398	t1451	TET, CLI, ERY, CIP
(*) Granja 20 / 4500	2/4	398	t011	5/10	398	t011	TET, CLI, ERY, GEN, TOB, TMP
	1/4	398	t011	1/10	398	t011	TET, CLI, ERY, GEN, TOB
Total	43/49			92/200			

(*) Ciclo Cerrado; (**) Ciclo Abierto. a) Antimicrobianos: TET, tetraciclina; ERY, eritromicina; CLI, clindamicina; GEN, gentamicina; CIP, ciprofloxacina; TMP, trimetoprim-sulfametoxazol; TOB: tobramicina. **N:** número. **Pos:** Positivos

Tabla 7. Detección de SARM ST398 en granjeros de cerdos y cerdos de las 20 granjas estudiadas.

2. Estudio de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con SARM-Tet^R y SARM-Tet^S en el Hospital Universitari de Vic (Barcelona)

Entre enero de 2012 y diciembre de 2015, se detectaron un total de 288 pacientes con colonización / infección por SARM, con una proporción estable durante los 4 años de estudio. Así el año con más pacientes con SARM corresponde al 2013 con 75 (26,0%), seguido de 2012 con 73 (25,3%), 2015 con 71 (24,7%) y 2014 con 69 (24,0%).

2.1 Diferencias Clínicas y Epidemiológicas entre SARM-Tet^R y SARM-Tet^S

Se detectaron un total de 288 pacientes con SARM, de los que se identificaron como SARM-Tet^R 106 casos (36.8%). Se ha evidenciado un incremento en la proporción de SARM-Tet^R a lo largo de los años del estudio, siendo del 21.9% en 2012 al 50.7% en 2015 ($p < 0,001$). Las características clínicas y diferencias epidemiológicas de los pacientes con SARM-Tet^R y SARM-Tet^S se describen en la **Tabla 1**. La edad media de los pacientes SARM-Tet^R fue menor (65.7 vs 73.5; $p=0.001$). En un 16,7% de los pacientes diagnosticados de infección/colonización intrahospitalaria se aisló SARM-Tet^R, y este porcentaje ascendía al 50% entre los diagnosticados de infección/colonización extrahospitalaria ($p < 0.001$). Un mayor porcentaje de pacientes con SARM-Tet^S provenían de residencias de ancianos en relación con los del grupo Tet^R (27,5% versus 4,7%; $p < 0.001$). En relación a la mortalidad a los 6 meses, el 40,3% de los pacientes con SARM-Tet^S y el 19,8% de los pacientes con SARM-Tet^R fallecieron ($p < 0.001$). Un mayor porcentaje de pacientes con SARM-Tet^R tenían el antecedente de contacto con granjas de cerdos en relación con los del grupo Tet^S (49,5% versus 1,1%, $p < 0.001$). Si se analiza el Índice de Barthel categorizado, el 61,3% de los pacientes con SARM-Tet^R tienen un Índice de Barthel de 100, a diferencia de los pacientes con SARM-Tet^S que es del 29,7% ($p < 0.001$). Por otro lado se ha realizado un análisis multivariante donde se observa que en el 2015 existe una probabilidad de 3,66 (OR: 1,77-7,56) veces de tener SARM-Tet^R, unas 5,00 (OR: 2,81-8,89) veces si es extrahospitalario y 87,81 (OR: 20,69 a 372,55) veces si tenemos contacto con cerdos. El análisis completo se expone en la **Tabla 8**.

	SARM-Tet ^R (n=106) n (%)	SARM-Tet ^S (n=182) n (%)	OR (IC 95%) Crudo	Valor de la p	OR (IC 95%) Ajustado
Año 2012	16 (21,9)	57 (78,1)	1	< 0,001	1
Año 2013	26 (34,7)	49 (65,3)	1,89 (0,91 - 3,93)		0,546 (0,16 - 1,85)
Año 2014	28 (40,6)	41 (59,4)	2,43 (1,17 - 5,07)		3,32 (1,18 - 9,28)
Año 2015	36 (50,7)	35 (49,3)	3,66 (1,77 - 7,56)		3,23 (1,4 - 9,15)
Edad ± DE	65.1 ± 22.7	73.6 ± 19.4	0,98 (0,97 - 0,99)	0,001	
Varón	76 (71,7)	108 (59,3)	1,74 (1,04 - 2,91)	0,035	
SARM asociado al Hospital	19 (17,9)	95 (52,2)	1	< 0,001	
SARM asociado a la Comunidad	87 (82,1)	87 (47,8)	5,00 (2,81 - 8,89)		
Residencia de anciano	5 (4,7)	50 (27,5)	0,13 (0,05 - 0,34)	< 0,001	
Mortalidad a los 6 meses	21 (19,8)	73 (40,3)	0,37 (0,21 - 0,64)	< 0,001	
Mortalidad < 30 días	8 (40)	24 (32,4)	1,39 (0,50 - 3,85)	0,526	
Granjero	52 (49,0)	2 (1,0)	87,81 (20,69 - 372,55)	< 0,001	288,79 (30,3 - 2750,7)
Admisión en Hospital últimos 12 meses	49 (46,2)	124 (68,1)	0,40 (0,25 - 0,66)	< 0,001	
I Barthel, ± DE	86,4 ± 32,0	64,0 ± 23,7	1,03 (1,01 - 1,04)	< 0,001	
0 - 20	6 (5,7)	29 (16,0)		< 0,001	
21 - 60	7 (6,6)	58 (32,0)			
61 - 90	28 (26,4)	38 (21,0)			
91 - 99	0 (0)	2 (1,1)			
100	65 (61,3)	54 (29,8)			
^a I Charlson ± DE	4,43 ± 3,7	6,21 ± 3,4	0,87 (0,81 - 0,93)	< 0,001	
* Antibióticos	72 (67,9)	159 (87,4)	0,31 (0,17 - 0,56)	< 0,001	
Más de 4 & comorbilidades	20 (18,9)	73 (40,1)			
Menos de 4 & comorbilidades	86 (81,1)	109 (59,9)	0,35 (0,20 - 0,62)	< 0,001	
Supervivencia a 10 años ± DE	41,4% ± 39,0%	20,9% ± 33,9%	1,02 (1,01 - 1,02)	< 0,001	
Úlcera en piel	48 (45,3)	108 (59,7)	0,56 (0,35 - 0,91)	0,018	0,21 (0,08 - 0,59)
Colonización	36 (34,0)	83 (45,6)	1	0,053	
Infección	70 (66,0)	99 (54,4)	1,63 (0,99 - 2,68)		2,26 (0,96 - 5,31)
Muestra Respiratoria	18 (17,0)	26 (14,3)	1	0,053	
Piel	73 (68,8)	108 (59,3)	0,97 (0,50 - 1,91)		3,03 (0,85 - 10,73)
Otros ^o	15 (14,2)	48 (26,4)	0,45 (0,20 - 1,04)		0,27 (0,06 - 1,14)

^a **Índice de Charlson** modificado por años. * como mínimo recibió 1 antibiótico en los últimos 6 meses. ° Hemocultivos, cultivo de bilis, cultivo de orina, cultivo de biopsia ósea, cultivo de prótesis [&]**Comorbilidades** incluye: enfermedad cerebrovascular, enfermedad crónica cardiovascular, enfermedad crónica hepática, enfermedad crónica pulmonar, enfermedad renal crónica, enfermedades autoinmunes, secuelas neurológicas, diabetes y enfermedades neoplásicas. **I**:Índice; **DE**: Desviación estándar

Tabla 8. Diferencias epidemiológicas y factores de riesgo asociados entre pacientes con SARM-Tet^R y SARM-Tet^S. Análisis univariado y multivariado

Tipado molecular de las cepas identificadas como SARM-Tet^R

Se realizó MLST de los 106 SARM-Tet^R y se observaron 13 diferentes tipos de secuencia (ST) (IOD: 0,308; IC del 95%: 0,192-0,42). El ST más frecuente fue ST398 detectado en 88 (83%) cepas, incluidas en el complejo clonal CC398, junto con otras 5 ST. Se observó un total de 20 tipos de *spa* (IOD: 0.65; IC del 95%: 0.550-0750), siendo t011 la mayor parte de los aislamientos (n = 61). Además, al analizar los datos de la combinación de MLST y del *spa* type de los 106 SARM-Tet^R, se evidenciaron 25 perfiles diferentes (IOD: 0,674; IC del 95%: 0,575-0,773). La combinación ST398 / t011 fue la predominante (N = 59), y ST398 se asoció con 10 diferentes tipos de *spa* types (**Figura 20**). Entre el MRSA-Tet^R no-CC398, se asociaron con otros 7 complejos clonales diferentes (CC1, CC9, CC30, CC97, CC121, CC146, CC152).

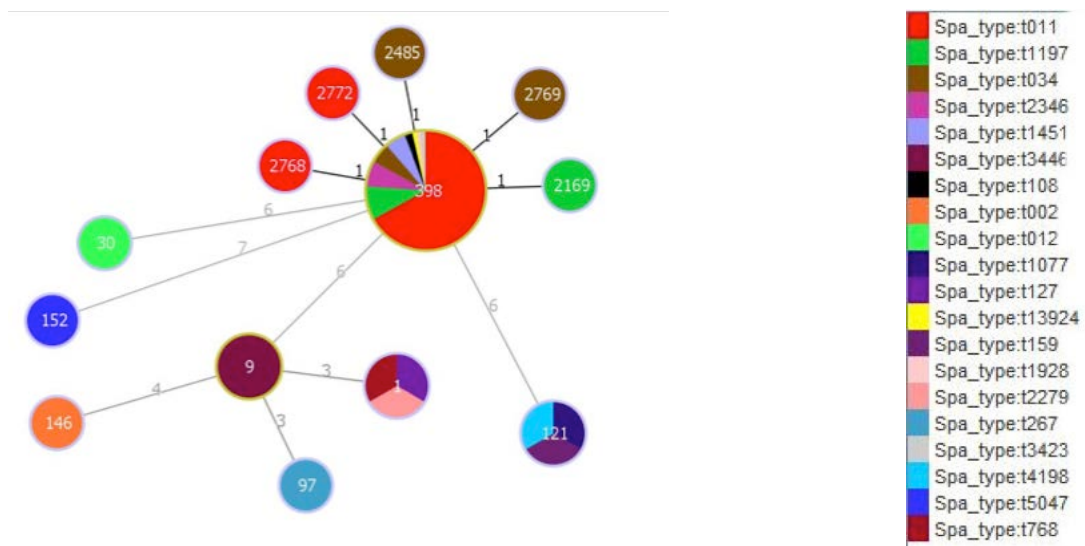


Figura 20. Árbol de expansión de 106 cepas SARM-Tet^R. Las ST se muestran como círculos. El tamaño de cada círculo corresponde al número de aislamientos dentro de este tipo particular. Las líneas negras conectan dos tipos que difieren dentro de un único locus y las líneas grises conectan más de dos variantes del loci.

2.2 SARM-Tet^R: características clínicas, epidemiológicas y diferencias entre las cepas CC398 vs no-CC398

Del total de 106 pacientes con SARM-Tet^R, 93 eran SARM CC398. No hubo diferencias ni de sexo ni edad, ni por adquisición (intra/extra). Durante los 4 años de estudio, la evolución del SARM CC398 es claramente ascendente (del 19% en 2012 al 45% en 2015) siendo claramente estadísticamente significativo ($p < 0.001$) (Figura 21). Tanto en CC398 como en no-CC398 el sexo masculino fue mayoritario (73.1% and 61.5%, respectivamente, $p = 0,385$) y de adquisición extrahospitalaria en ambos casos (80.6% and 92.3%, respectivamente, $p=0,304$).

No se observaron diferencias en relación a la mortalidad a los 6 meses ($p = 0.752$): no obstante, si valoramos la mortalidad en los primeros 30 días de diagnóstico de SARM, del total de 8 pacientes, en el grupo no-CC398 fueron 2 (25,0%) frente a 6 (75,0%) del grupo CC398 ($p = 0,068$). El 2,2% de los pacientes SARM CC398 viven en una residencia de ancianos en relación al 23.1% en el grupo no-ST398 ($p=0,001$). El 54,3% de los pacientes con SARM CC398 han tenido contacto con granjas de cerdos, frente al 15.4% de los del grupo no-ST398 ($p = 0,009$). No se observó asociación con comorbilidades (Charlson, Barthel) (41,30%, SD:38,14 and 41,70%, SD:44,25, respectivamente) ($p = 0,969$) e ingresos hospitalarios ($p=0,996$).

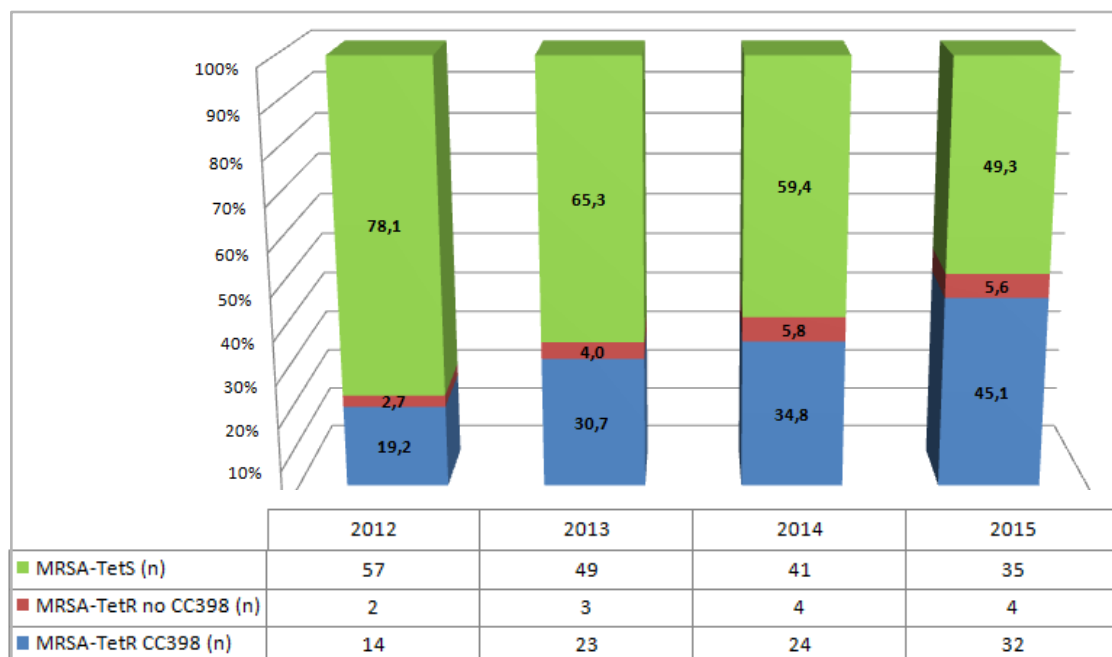


Figura 21. Prevalencia de SARM-Tet^R (CC398 y no CC398) y SARM-Tet^S durante los 4 años estudiados.

2.3 Colonización / Infección

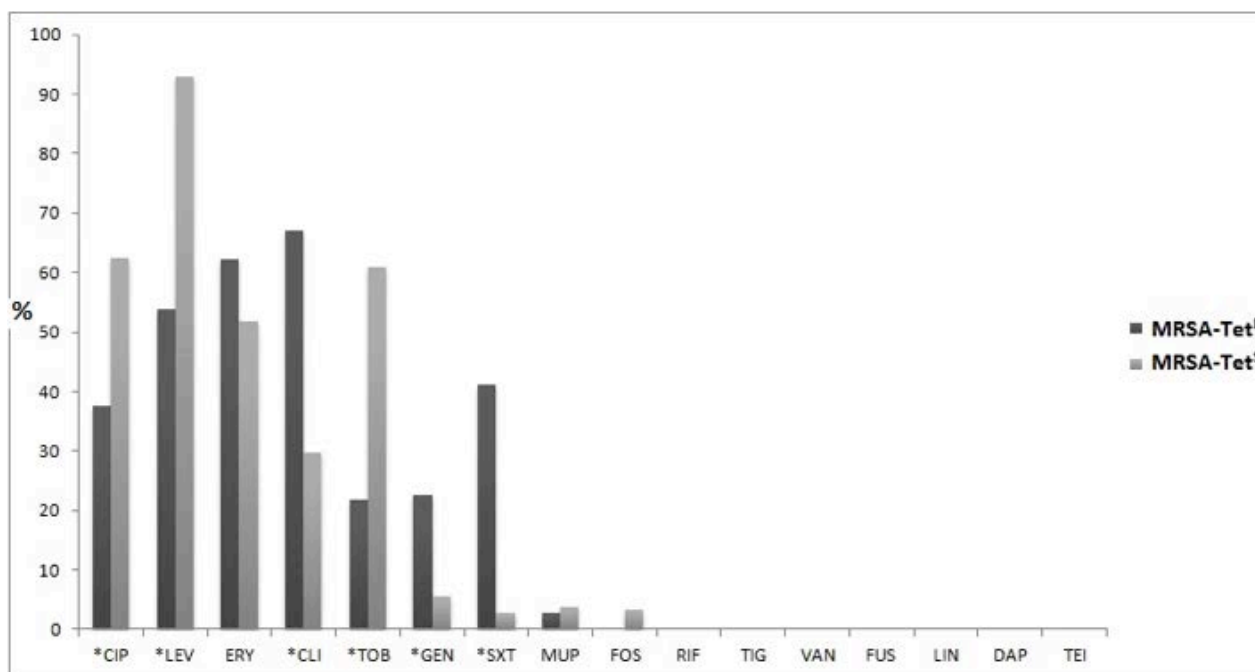
Durante los 4 años estudiados se diagnosticaron 169 (58,7%) pacientes con infección por SARM, de los cuales 70 (41,4%) fueron por SARM-Tet^R. El origen más frecuente en SARM tanto en Tet^R como en Tet^S fue la piel (68,9% y 59,3%, respectivamente), seguido de muestras respiratorias (17% y 14,3%, respectivamente) y otras muestras que incluyen hemocultivos, orina, y cultivo de bilis (14,2% / 26,4%). La infección más frecuente fue la celulitis. En la Tabla 9 se muestran las infecciones más frecuentes tanto por SARM-Tet^R, SARM-Tet^S. Cuando se analizan las infecciones por SARM-Tet^R, se observa que 60/70 fueron por SARM CC398 (en la última columna de la **Tabla 9** se detallan las infecciones). Las infecciones de piel y Neumonía por SARM fueron más frecuentes en cepas SARM-Tet^R y CC398, mientras que las bacteriemia fueron más frecuentes en cepas MRSA-Tet^S.

Tipo de infección	SARM-Tet ^R n=70 n (%)	SARM-Tet ^S n=99 n (%)	p	SARM CC398 n=60 n (%)
Celulitis	33 (47,1)	32 (32,3)	0,051	28 (50,9)
Infección urinaria	9 (12,9)	26 (26,3)	0,034	8 (14,5)
Absceso cutáneo	8 (11,4)	15 (15,2)	0,487	7 (12,7)
Neumonía	5 (7,1)	2 (2,0)	0,127*	5 (9,1)
Artritis séptica	2 (2,9)	1 (1,0)	0,570*	2 (3,6)
Otitis	2 (2,9)	2 (2,0)	1,000*	2 (3,6)
Furunculosis	2 (2,9)	4 (4,0)	1,000*	2 (3,6)
Osteomielitis	2 (2,9)	3 (3,0)	1,000*	0 (0,0)
Balanitis	1 (1,4)	1 (1,0)	1,000*	1 (1,8)
Endocarditis	1 (1,4)	0 (0,0)	0,414*	1 (1,8)
Infección de catéter	1 (1,4)	0 (0,0)	0,414*	1 (1,8)
Infección de marcapasos	1 (1,4)	0 (0,0)	0,414*	0 (0,0)
Infección de prótesis	1 (1,4)	2 (2,0)	1,000*	1 (1,8)
Bacteremia	1 (1,4)	10 (10,1)	0,027*	1 (1,8)
Vaginitis	1 (1,4)	0 (0,0)	0,414*	1 (1,8)
Colecistitis aguda	0 (0,0)	1 (1,0)	1,000*	0 (0,0)

Tabla 9. Tipos de infecciones producidas por SARM-Tet^R, SARM-Tet^S y SARM CC398

2.4 Fenotipo de resistencia a los antibióticos no β -lactámicos

Los porcentajes de resistencias tanto por grupo SARM Tet^R como para el grupo MRSA-Tet^S se muestran en la Figura 22.



* $p < 0.001$

Antibióticos: CIP, ciprofloxacina; LEV, levofloxacina; ERY, eritromicina; CLI, clindamicina; TOB, tobramicina; GEN, gentamicina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; MUP, mupirocina; FOS, fosfomicina; RIF, Rifampicina; TIG, tigeciclina; VAN, vancomicina; FUS, fusidic acid; LIN, Linezolid; DAP, Daptomycin; TEI, teicoplanin.

Figura 22. Diferencias entre SARM-Tet^R y SARM-Tet^S en relación al fenotipo de resistencias antibióticas de agentes no β -lactámicos.

Asimismo en la **Tabla 10** se indican los fenotipos de resistencias a antibióticos no β -lactámicos de las cepas SARM-Tet^R. Se observó un mayor porcentaje de resistencia para fluoroquinolonas y tobramicina en cepas de SARM-Tet^S y un mayor porcentaje de resistencia para clindamicina y SXT para cepas de SARM-Tet^R. Las cepas ST398 y ST9 fueron los tipos de secuencia asociados con los fenotipos más amplios de resistencia a los antibióticos (**Tabla 10**).

Número de cepas	Contacto de	Tipo de muestra	MLST/CC	Spa type	Fenotipo de resistencia para no β -lactámicos
59	31	37/22	ST398/CC398	t011	GEN ¹⁵ , TOB ¹² , CIP ²⁸ , CLI ³¹ , ERY ³⁹ , MUP ¹ , SXT ²² , LEV ³¹ , FUS ¹
5	3	4/1	ST398/CC398	t034	GEN ² , TOB ² , CIP ⁵ , CLI ³ , ERY ² , SXT ² , LEV ⁵
2	1	2/0	ST398/CC398	t108	CLI ² , ERY ² , SXT ¹
8	5	8/0	ST398/CC398	t1197	GEN ¹ , TOB ³ , CIP ⁷ , CLI ⁷ , SXT ⁸ , LEV ⁸
1	0	0/1	ST398/CC398	t13924	CIP, SXT, LEV
5	2	3/2	ST398/CC398	t1451	GEN ¹ , TOB ¹ , CIP ³ , CLI ⁵ , ERY ³ , SXT ² , LEV ⁴
1	0	1/0	ST398/CC398	t1928	CIP, CLI, SXT, LEV
6	3	0/6	ST398/CC398	t2346	CIP ¹ , CLI ⁵ , ERY ⁵ , LEV ¹
1	1	1/0	ST398/CC398	t3423	CIP, CLI, ERY, SXT, LEV
1	1	1/0	ST2169/CC398	t1197	CLI, SXT
1	1	0/1	ST2485/CC398	t034	CIP, LEV
1	0	1/0	ST2768/CC398	t011	GEN, TOB, ERY, SXT
1	1	1/0	ST2769/CC398	t034	CIP, LEV
1	1	1/0	ST2772/CC398	t011	CLI
1	0	1/0	ST1/CC1	t2279	GEN, TOB, CLI, ERY, MUP
1	0	0/1	ST1/CC1	t768	
1	0	1/0	ST1/CC1	t127	CLI, ERY
3	0	2/1	ST9/CC9	t3446	GEN ² , TOB ¹ , CIP ¹ , CLI ² , ERY ² , SXT ² , LEV ²
1	0	1/0	ST30/CC30	t012	CLI, ERY, MUP
1	0	1/0	ST97/CC97	t267	
1	1	1/0	ST121/CC121	t159	
1	0	0/1	ST121/CC121	t1077	
1	1	1/0	ST121/CC121	t4198	TOB, SXT
1	0	1/0	ST146/CC146	t002	GEN, CIP, ERY, LEV
1	0	1/0	ST152/CC152	5047	

a I: Infección; C: Colonización; **b** El superíndice marca el número de resistencias por cada antibiótico; **C** Antibióticos: ERY, eritromicina; CLI, clindamicina; GEN, gentamicina; TOB, tobramicina; CIP, ciprofloxacina; MUP, mupirocina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol; FUS, ácido fusídico; LEV, levofloxacina

Tabla 10. Fenotipos de resistencias a antibióticos no β -lactámicos de las cepas SARM Tet^R

3. Estudio de Prevalencia de SARM y SARM-Tet^R especialmente SARM CC398 en residencias de ancianos de la comarca de Osona

3.1 Diferencias clínicas y epidemiológicas entre residentes colonizados por SARM y no colonizados

Se estudiaron un total de 204 residentes repartidos en seis residencias, 32 (15.7%, IC 95%:10.7 – 20.7%) resultaron positivas para SARM. Del total de MRSA, 8 (25% IC 95%: 10.0 – 40.0%) fueron SARM Tet^R, siendo 5 (15.6% IC 95%: 3.0 – 28.0) SARM ST398. El *spa* type más frecuente fue el t011. El 74% (20/32) de los residentes colonizados por SARM fueron mujeres. La residencia con la mayor prevalencia fue la numero 3 (Manlleu) con un 30.2% (13/43) y la de menor prevalencia la numero 2 (Vic) con un 7.3% (3/41) ($p=0.051$). Las diferencias epidemiológicas entre los residentes colonizados por SARM y no colonizados se describe en la **Tabla 11**.

3.2 Diferencias clínicas y epidemiológicas entre residentes colonizados por SARM Tet^R y SARM Tet^S

La edad media de los residentes colonizados por SARM-Tet^S fue de 88.2 (SD 6.8) años y de 91.2 (SD: 6.2) años los colonizados por SARM-Tet^R. Un total de 26 residentes tuvieron contacto con familiares de granjeros de cerdos en los últimos 12 meses, siendo 7 (26.9%) colonizados por SARM, de los cuales 4 eran SARM-tet^R y SARM ST398. Asimismo solo 2 residentes tuvieron contacto directo con granjas de cerdos, siendo ambos positivos para SARM ST398. En la **Tabla 12** se describen las características y diferencias clínicas entre los residentes colonizados por SARM-Tet^S vs SARM-Tet^R.

	SARM (n=32) n (%)	No SARM (n=172) n (%)	p
Residencias			0,115
Área Urbana	23 (71,9)	98 (57,0)	
Área Rural	9 (28,1)	74 (43,0)	
Edad \pm DE	89,0 \pm 6,2	85,9 \pm 12,0	0,161
Mujer	27 (84,4)	134 (77,9)	0,410
Salen de la residencia	7 (21,9)	57 (34,1)	0,174
Años en la RA, media \pm DE	7,2 \pm 4,1	5,8 \pm 3,8	0,069
Contacto con el Hospital en los últimos 12 meses	15 (46,9)	44 (25,6)	0,015
Contacto con granjeros en los últimos 12 meses	7 (21,9)	19 (11,0)	0,092
Contacto con granjas en los últimos 12 meses	2 (6,3)	0 (0,0)	0,004
Comorbilidades			0,740
Más de 4	21 (15,1)	118 (84,9)	
Menos de 4	11 (16,9)	54 (81,1)	
Catéter urinario permanente	0 (0,0)	0 (0,0)	NA
Tratamiento ATB últimos 12 meses	22 (68,8)	90 (52,3)	0,086
I Barthel categorizado			0,086
≤ 20	9 (28,1)	47 (27,3)	
25-85	13 (40,6)	78 (45,3)	
> 90	10 (31,3)	47 (27,3)	
Deterioro cognitivo			0,129
No deterioro	6 (18,8)	44 (25,6)	
Moderado	9 (28,1)	69 (40,1)	
Severo	17 (53,1)	59 (34,3)	

a Comorbilidades incluye: enfermedad cerebro vascular, enfermedad crónica cardiovascular, enfermedad crónica hepática, enfermedad crónica pulmonar, enfermedad renal crónica, enfermedades autoinmunes, secuelas neurológicas, diabetes y enfermedades neoplásicas. **ATB**: Antibióticos. NA: No Aplicable, RA: Residencia de Ancianos

Tabla 11. Diferencias epidemiológicas entre los residentes colonizados por SARM y no colonizados en las 6 residencias estudiadas.

	SARM-Tet ^R (n=8) n (%)	SARM-Tet ^S (n=24) n (%)	p
Residencias			0,023
Área Urbana	3 (37,5)	20 (83,3)	
Área Rural	5 (62,5)	4 (16,7)	
Edad ± DE	91,2 ± 3,6	88,2 ± 6,8	0,044
Mujer	7 (87,5)	20 (83,3)	0,779
Salen de la residencia	3 (37,5)	4 (16,7)	0,217
Años en la RA, media ± DE	9,0 ± 4,6	6,6 ± 3,9	0,176
Contacto con el Hospital en los últimos 12 meses	4 (50,0)	11 (45,8)	0,838
Contacto con granjeros en los últimos 12 meses	4 (50,0)	3 (12,5)	0,026
Contacto con granjas en los últimos 12 meses	2 (25,0)	0 (0,0)	0,018
Comorbilidades			0,283
Más de 4	4 (19,0)	17 (81,0)	
Menos de 4	4 (36,4)	7 (63,6)	
Catéter urinario permanente	0 (0,0)	0 (0,0)	NA
Tratamiento ATB últimos 12 meses	7 (87,5)	15 (62,5)	0,186
I Barthel categorizado			0,782
≤20	2 (25,0)	8 (33,3)	
25-85	3 (37,5)	10 (41,7)	
>90	3 (37,5)	6 (25,0)	
Deterioro cognitivo			0,348
No deterioro	1 (12,5)	5 (20,8)	
Moderado	1 (12,5)	8 (33,3)	
Severo	6 (75,0)	11 (45,8)	

Tabla 12. Diferencias epidemiológicas entre los residentes colonizados por SARM-Tet^R y SARM-Tet^S en las 6 residencias de ancianos estudiadas

La mayoría de las cepas SARM-ST398 presentaron un fenotipo multirresistente (resistencia de al menos tres familias diferentes de antibióticos), incluyendo en todos los casos resistencia a la tetraciclina. En la **Tabla 13** se describen las características de los residentes colonizados por SARM-Tet^R (especialmente ST398) así como el fenotipo de resistencia antibiótica.

Residente portador de SARM (NR)	SARM CC/ST	<i>Spa</i> type	Sale de la residencia	^a Contacto con granjeros	^a Contacto con granjas	^a Contacto con el Hospital	Fenotipo de resistencia
1 (1)	1/1	t768	No	No	No	No	TET,CIP
2 (2)	398/398	t011	Si	Si	Si	Si	TET,CIP,ERY
3 (3)	398/398	t011	No	Si	No	Si	TET,GEN,TOB,CIP,LEV,CLI, SXT
4 (4)	398/398	t011	No	No	No	No	TET,CIP,LEV
5 (5)	146/146	t002	No	No	No	No	TET,GEN,CIP,LEV
6 (6)	398/398	t011	Si	Si	No	Si	TET,CIP,ERY, CLI,SXT
7 (6)	398/398	t011	Si	Si	Si	Si	TET,GEN,TOB,ERY, CLI, SXT
8 (6)	9/9	t3446	No	No	No	No	TET,GEN,CIP,ERY,CLI, SXT

NR, número de residencia

Antibióticos: TET, tetraciclina; CIP, ciprofloxacina; LEV, levofloxacina; ERY, eritromicina; CLI, clindamicina; TOB, tobramicina; GEN, gentamicina; SXT, trimetoprim-sulfametoxazol.

Tabla 13. Tipado molecular y fenotipos de Resistencia en los ocho residentes colonizados por SARM- Tet^R en las residencias estudiadas.

DISCUSIÓN

1. Estudio de SARM ST398 en granjas de cerdos en la comarca de Osona

La prevalencia de SARM-AG del linaje ST398 en los trabajadores porcinos de la comarca de Osona (Catalunya, España) es del 58%, considerablemente superior al único estudio previo de SARM en granjeros en España (9%) (Morcillo et al., 2012), y también mucho mayor que la prevalencia de SARM en la población general en España (<0,5%) (Lozano et al., 2011). Este es el primer estudio de prevalencia de SARM-AG en los trabajadores de granjas de cerdos realizado en Catalunya.

En el estudio realizado en las islas Canarias, se detectó una prevalencia relativamente baja de SARM (9%) en muestras nasales de trabajadores porcinos (incluidos los granjeros y trabajadores de mataderos). Aunque si se analizan solo los granjeros la prevalencia aumenta hasta un 15% (Morcillo et al., 2012). En nuestro estudio, los trabajadores estudiados fueron exclusivamente de granjas de cerdos, lo que podría explicar la mayor prevalencia de SARM-ST398 (58%). Otros estudios europeos encontraron una menor prevalencia de SARM-AG en los granjeros de cerdos, así en Suiza no se detectaron SARM-AG en granjeros (Huber et al., 2010), mientras que otro estudio en Alemania la prevalencia fue del 25% (Dahms et al., 2014). Nuestros hallazgos se aproximan a los de un estudio en los Países Bajos, donde el 63% de los criadores de cerdos están colonizados por el linaje ST398 (van Cleef et al., 2014).

El estado portador de SARM-AG en los seres humanos está relacionado con el contacto directo con cerdos (Van Loo et al., 2007) o la transmisión humano-humano (McCarthy et al., 2012), asimismo la colonización puede ser intermitente o persistente (Graveland et al., 2011; Köck et al., 2012). Por lo tanto, los factores de riesgo para el estatus persistente de portador SARM-ST398 dependen de la intensidad del contacto con los animales (Graveland et al., 2011), junto con un rango de edad de 40-49 años, trabajo de 40 horas a la semana, ayudar a las cerdas con el parto y la falta de lavado de manos al salir de las granjas (van Cleef et al., 2014). Nuestro estudio muestra que el tamaño de la granja podría ser también un factor importante para la colonización de SARM ST398; Por lo tanto, trabajar en granjas con más de 1.250 cerdos parece estar asociado con un mayor riesgo de colonización nasal por SARM ST398 en granjeros; Sin embargo, no se observó diferencia entre portadores y no portadores de SARM cuando se evaluó el número de años de trabajo en la granja.

Además, en todas las explotaciones donde tanto el agricultor como los cerdos fueron estudiados, los resultados para SARM ST398 fueron positivos y el tipo de *spa* y el fenotipo de resistencia fueron similares.

Este hallazgo sugiere que humanos y animales tienen cepas interrelacionadas. Se sabe que SARM-AG ST398 se originó como SASM en seres humanos y ejemplifica un intercambio zoonótico bidireccional, subrayando los posibles riesgos para la salud pública (Price et al., 2012).

La prevalencia de SARM en cerdos (46%) fue similar en comparación con otros estudios europeos. Por ejemplo, en Bélgica un 44% eran portadores (Crombé et al., 2012); En Alemania, se informó una prevalencia del 52% en las explotaciones de engorde (Alt et al., 2011), y en los Países Bajos se observó una prevalencia del 56% en los cerdos (Broens et al., 2011b). Por otra parte, en La Rioja (norte de España), se describió una prevalencia del 21% y 49% en cerdos de engorde y cochinito, respectivamente (Gómez-Sanz et al., 2010).

Los animales estudiados fueron cerdas y cerdos de engorde, con una prevalencia ligeramente superior, aunque no estadísticamente significativa, encontrada en cerdas. Esto puede deberse a que los cerdos de engorde viven sólo 6 meses, momento en el que son enviados al matadero. Como resultado, puede que no haya suficiente tiempo para que estos animales sean colonizados. Las cerdas, por el contrario, viven en granjas por un promedio de 5 años. Esta tendencia hacia una relación lineal entre el aumento de la colonización por SARM-AG y una mayor esperanza de vida fue descrito previamente por Broens et al. (Broens et al., 2012).

Todos los SARM identificados eran del mismo linaje genético (ST398), y el tipo de spa más frecuente encontrado en los trabajadores fue t011, seguido por t108, t1451, t1197 y t1456; En los cerdos, los más frecuentes fueron t011, t108 y t1456. Esta conclusión coincide con otros estudios europeos en España, Bélgica, Alemania y los Países Bajos (Alt et al., 2011; Bosch et al., 2010; Camoez et al., 2013).

En términos de fenotipos de resistencia a los antibióticos, todos nuestros aislamientos SARM ST398 mostraron resistencia a la tetraciclina. Estudios anteriores han demostrado que la resistencia a la tetraciclina es un buen marcador fenotípico de SARM de la línea ST398 (Camoez et al., 2013; Lozano et al., 2012c) y se sabe que el gen tet (M), que codifica la resistencia a la tetraciclina en las cepas SARM ST398, se integra en el SCCmec. Las cepas de SARM de este estudio mostraron altas tasas de resistencia a la eritromicina, e incluso mayores para la clindamicina. En diez de los granjeros de cerdos estudiados, se detectaron SARM con resistencia a la clindamicina-eritromicina disociada (resistencia a la clindamicina / susceptibilidad a la eritromicina), probablemente debido a genes de resistencia a la clindamicina como *InuA* o *vgaA* de este linaje genético (Lozano et al., 2012a, 2012b). La mayoría de los aislados de SARM obtenidos de los granjeros y cerdos en este estudio mostró un amplio fenotipo de resistencia a los antibióticos, característica de este linaje genético SARM (Benito et al., 2014).

Una limitación del estudio es que no se incluyeron otros grupos de cerdos de las granjas. Para minimizar este efecto, fueron incluidos en el estudio la mayoría de los grupos de cerdos (cerdos de engorde y cerdas) de cada granja. Por otro lado, todas las fincas participantes utilizaron el mismo veterinario y la misma empresa para monitorear el saneamiento. Por lo tanto, nuestros hallazgos sobre el control antibiótico no pueden necesariamente generalizarse a otras granjas.

2. Estudio de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con SARM-Tet^R y SARM-Tet^S en el Hospital Universitari de Vic (Barcelona)

La prevalencia de aislados clínicos SARM-Tet^R en zonas de alta densidad de cerdos, como la comarca de Osona (Barcelona), a expensas principalmente del linaje ST398 (83%), es cada vez más elevada, con una progresión ascendente durante los 4 años estudiados, representando más del 50% del total de muestras SARM en el último año. Nuestro estudio evidencia que en zonas de alta densidad de cerdos, como la analizada en este trabajo, SARM-Tet^R (especialmente CC398) está aumentando exponencialmente. Si consideramos el aumento de las cepas SARM CC398 durante los últimos años, posiblemente en un futuro éste clon podría ser mayoritario en las colonizaciones/infecciones extrahospitalarias por SARM en nuestro medio.

En relación al grupo SARM-Tet^R, nuestro estudio evidencia un perfil de paciente más joven, con menos patología asociada, un índice de Barthel alto, adquisición predominantemente comunitaria, escaso contacto hospitalario, menos toma previa de antibióticos, índice de Charlson menor y sin contacto con residencias de ancianos. Estos datos permiten conocer las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con SARM-Tet^R (que mayoritariamente son CC398) y diferenciarlos claramente de los pacientes con SARM-Tet^S.

Si analizamos la mortalidad en nuestro estudio a los 6 meses del diagnóstico, se observa que existe una diferencia significativa entre los grupos SARM-Tet^R y SARM-Tet^S. Este hallazgo posiblemente está influenciado porque las características de ambos grupos son muy diferentes, siendo el grupo SARM-Tet^S pacientes de edad más avanzada, con mayor comorbilidad, mayor dependencia, más ingresos hospitalarios y posiblemente más frágiles en su conjunto. Además, si se observa la mortalidad en los primeros 30 días, no existe una diferencia significativa. Es por ello que posiblemente el diagnóstico de SARM en sí, tenga una participación directa en la mortalidad independientemente si es SARM CC398 o no. Durante los 4 años de estudio se han diagnosticado infecciones graves por SARM-Tet^R y especialmente por SARM CC398, como endocarditis, infecciones de prótesis, artritis séptica e infección de marcapasos entre otros. Asimismo, se han detectado casi la misma proporción de infecciones como de colonizaciones en los diferentes años estudiados. Estos hallazgos sugieren que SARM-Tet^R y especialmente el CC398 se comporta cada vez más con la misma capacidad de producir una infección que un SARM-Tet^S y que son

capaces de desarrollar enfermedades graves o con una alta morbilidad. Por todo ello, en el momento del diagnóstico de un aislado SARM CC398, no tendríamos que desestimar la posibilidad de una infección grave o de complicaciones severas.

Si bien nuestro estudio identifica como factor de riesgo el contacto con cerdos para la adquisición de SARM CC398, se observa que en casi la mitad de las infecciones/colonizaciones no se ha evidenciado un contacto directo con granjas de cerdos. Esto indica que SARM-AG se puede difundir a través de otras fuentes distintas de la exposición directa a las granjas de cerdos, como también indican otros autores (Benito et al., 2014). Un factor de riesgo independiente para la colonización de SARM CC398 es la densidad de cerdos, de vacas y de terneros por municipio (Feingold et al., 2012)(van Rijen et al., 2013) y la comarca de Osona (Barcelona) es una de las zonas con más alta densidad de cerdos de Catalunya y de España con más de 900 cerdos/Km² (Idescat (Institut D'Estadística de Catalunya), 2014) y en donde se sacrifican diariamente unos 30.000 cerdos, representando alrededor del 57% de todos los cerdos sacrificados en Catalunya. (Departament d'Agricultura, Ramaderia, 2015). Por todo ello pensamos que podría ser uno de los factores más determinantes para la prevalencia de colonización en ésta región.

Otra posibilidad de adquisición de SARM ST398 podría ser a través del contacto con el aire o el suelo contaminado (Gibbs et al., 2006)(Broens et al., 2012)(Broens et al., 2012)(Bos et al., 2014) ya que existen alrededor de 670 granjas en la comarca de Osona y muchas de ellas muy cercanas a poblaciones.

Aunque la prevalencia de SARM CC398 en la población general es baja (B. A. Van Cleef et al., 2010) la transmisión entre humanos también es posible dado que la colonización por SARM CC398 puede producirse de manera intermitente o persistente (Köck et al., 2012)(Slingerland et al., 2012)(Verkade et al., 2013). SARM-AG es capaz de propagarse entre granjeros de cerdos y otras personas que están en estrecho contacto con animales, pero es menos capaz de propagarse a los miembros del hogar que no entran en los establos, y a las personas en la comunidad sin población de cerdos.

Por otro lado se ha analizado el fenotipo de resistencia a los antibióticos no betalactámicos en los SARM y se ha detectado una mayor resistencia a la eritromicina y especialmente a la clindamicina en SARM-Tet^R. Estos presentan un perfil de resistencias similar a los identificados en un estudio previo de trabajadores de granjas de cerdos.(Oppliger et al., 2012)

La mayoría de los aislados MRSA-Tet^R de nuestro estudio fueron tipados como CC398 (87.7%), siendo esta frecuencia superior a la de otros estudios recientes realizados en España (60%)(Benito et al., 2014). Por otra parte, en 2 pacientes que trabajaban en granjas de cerdos se aisló MRSA ST9. Ésta cepa se ha

relacionado con granjas de cerdos, siendo más frecuente en regiones de Asia y menos frecuente en Europa (Chuang and Huang, 2015)(van Cleef et al., 2011).

Las limitaciones de este estudio están centradas en que sólo se han identificado las personas que han presentado infección / colonización pero no los posibles portadores. Esto hace pensar que si se plantea un estudio de portadores a los pacientes que ingresan en el hospital la prevalencia podría ser superior. Por otro lado podría existir un sesgo en el momento del diagnóstico de una infección de piel y una colonización de piel. En este sentido se han registrado como diagnóstico de infección de piel las que presentaban signos claros de infección, tanto clínicos como de laboratorio, criterio clínico, utilización de antibióticos y el seguimiento del paciente. Sin embargo cuando se compara la colonización vs infección no se han evidenciado diferencias significativas. Por otra parte, cuando se comparan los grupos SARM-Tet^R, el grupo no-ST398 es pequeño y resulta difícil poder extraer conclusiones, se necesitarán más años o un aumento en el número de pacientes para poder confirmar los resultados actuales.

3. Estudio de Prevalencia de SARM y SARM-Tet^R especialmente SARM CC398 en residencias de ancianos de la Comarca de Osona

La prevalencia de SARM en residencias de ancianos (15%) encontrada en nuestro estudio fue similar a estudios realizados en España (Manzur et al., 2008) o incluso mayor que algunos estudios realizados en Europa. La prevalencia de SARM en residencias de ancianos en diferentes países de Europa es muy variable, siendo del 23.3% en Irlanda del Norte (Baldwin et al., 2009), un 7.1% en Croacia (Budimir et al., 2014), un 4.7% en Inglaterra (Cox and Bowie, 1999), un 7.6% en Alemania (Pfungsten-Würzburg et al., 2011), un 19.9% en Bélgica (Denis et al., 2009), y de un 16% al 26% en Estados Unidos (Hudson et al., 2013).

La prevalencia de SARM ST398 en residencias de ancianos en la comarca de Osona (Barcelona, España) representa el 15.6% del total de pacientes colonizados por SARM. Este es el primer trabajo que describe la presencia del SARM ST398 en residencias de ancianos en Catalunya y en España.

La comarca de Osona (Barcelona) es una de las zonas con mayor densidad de cerdos en Catalunya y también en España (Idescat (Institut D'Estadística de CATalunya), 2014). La ganadería es una de las principales actividades económicas. En trabajos anteriores se observó que el 57,8% de los trabajadores de granjas de cerdos eran portadores de SARM ST398 y que alrededor del 45% de los pacientes diagnosticados de SARM (colonización o infección) en 2015 en el hospital, pertenecían al linaje ST398. Estos datos sugieren que el SARM ST398 juega un papel significativo tanto en la colonización como en las infecciones de la población de la Comarca de Osona.

Un estudio realizado en China en donde analizaron a 491 residentes en 7 residencias, detectaron 21 residentes portadores de SARM ST398 aunque de ellos se desconoce si tuvieron contacto o no con familiares granjeros y la forma de transmisión (Zhang et al., 2015).

Por otra parte en Alemania se describió un primer brote de SARM ST398 en una residencia de ancianos. Se observó que 2 de 4 residentes habían tenido contacto con familiares de granjas de cerdos (Verkade et al., 2012). En nuestro estudio, cuando se analizaron los residentes colonizados por SARM ST398, 4/5 residentes tuvieron contacto directo con familiares que trabajaban en granjas de cerdos (acudiendo a su casa o con visitas periódicas de los familiares a la residencia) y 2 de ellos durante los fines de semana acudían a la granja de cerdos (aunque sin tener contacto directo con los cerdos), en donde también

residían sus familiares. Este hallazgo sugiere que posiblemente la adquisición del SARM ST398 podría ser a través de sus familiares y no dentro de la misma residencia. Aunque si bien es conocido que los centros de residencias son un reservorio para SARM también podría serlo para SARM ST398.

En nuestro estudio en una misma residencia fueron identificados 2 residentes con SARM ST398 y con el mismo *spa* type (t011), ambos estuvieron en contacto con familiares de trabajadores de granjas, aunque no con las granjas directamente. Si bien podría tratarse de un brote, no fue posible confirmarlo debido a que no se analizaron ni a los familiares ni al personal sanitario.

Por otra parte en la residencia numero 6 se identificaron 2/3 (66.6%) residentes colonizados por SARM ST398 a diferencia de la residencia numero 3 que solo se identificaron 1/13 (7.6%), esta diferencia podría explicarse porque la residencia numero 6 está en una zona rural y recibe personas que vienen directamente de sus casas, mientras que la numero 3 está ubicada en una zona urbana, además de recibir de forma habitual pacientes derivados del hospital.

Si bien actualmente la prevalencia de SARM ST398 en nuestro estudio es relativamente menor que el resto de SARM, posiblemente por las características de la región con alta densidad de cerdos, el SARM ST398 en un futuro podría tener una prevalencia mayor, para ello seguramente se necesitará realizar un nuevo análisis en los próximos años con el fin de confirmar esta hipótesis.

Este trabajo contiene varias limitaciones, primero solo se estudiaron los residentes de las residencias y no los familiares de los residentes colonizados por SARM ST 398 que podrían ser los principales transmisores. Segundo, no se estudiaron en las residencias el personal sanitario, este dato nos impide reconocer al personal de las residencias como un potencial transmisor del SARM ST398 en cada residencia. Tercero, si bien se han comparado los grupos de residentes portadores de SARM-Tet^R vs SARM-Tet^S, los resultados deben interpretarse con cuidado dado que ambos grupos presentan un escaso número de residentes para poder extraer conclusiones firmes.

CONCLUSIONES

1. Estudio de SARM ST398 en granjas de cerdos en la comarca de Osona

1. Se describe por primera vez la prevalencia de SARM ST398 en Catalunya, la región de España con mayor densidad de cerdos.
2. La prevalencia observada de SARM-AG en los trabajadores porcinos en la Comarca de Osona (Catalunya, España) es elevada.
3. Los granjeros de cerdos que trabajan en granjas con más de 1.250 cerdos son más propensos a estar colonizados por SARM-AG.
4. La prevalencia de SARM en cerdos (46%) fue similar en comparación con otros países europeos. En las granjas donde se estudiaron trabajadores y cerdos, ambos fueron positivos.

2. Estudio de las características epidemiológicas y clínicas de los pacientes con SARM-Tet^R y SARM-Tet^S en el Hospital Universitari de Vic (Barcelona)

5. La Prevalencia de SARM-Tet^R (especialmente del linaje CC398) en la comarca de Osona (Barcelona), en pacientes hospitalizados o relacionados con la asistencia sanitaria es elevada, representando más del 50% del total de aislados SARM.
6. La resistencia a tetraciclina es un marcador excelente en nuestra zona para detectar las cepas clínicas de SARM del linaje CC398 (87.7%).
7. El aumento de detección de SARM-Tet^R y especialmente CC398 durante los últimos años hace pensar que en un futuro podría ser el clon SARM comunitario en nuestra zona.
8. Las características clínicas de los pacientes en los que se han identificado SARM-Tet^R son más jóvenes, con menos comorbilidad, menos ingresos hospitalarios, con una adquisición extrahospitalaria y en un 50% con contacto con granjas de cerdos.
9. Se han detectado infecciones graves por SARM ST398 y con una mortalidad similar a la de SARM-Tet^S.

3. Estudio de Prevalencia de SARM y SARM-Tet^R especialmente SARM CC398 en residencias de ancianos de la Comarca de Osona

10. La prevalencia de colonización por SARM ST398 en residencias de ancianos en la Comarca de Osona (Barcelona, España) representa el 15.6% del total de SARM.
11. La prevalencia de SARM en las residencias estudiadas fue similar a estudios previos. Las residencias son un reservorio conocido de SARM y en la zona estudiada también podrían ser de SARM ST398.
12. Nuestro estudio sugiere que la transmisión de SARM ST398 entre personas podría ser la más probable.

FUTURAS INVESTIGACIONES

Prevalencia del SARM CC398 en la población general de la comarca de Osona.

Como se explicó anteriormente, la comarca de Osona es una de las comarcas de Catalunya con mayor densidad de cerdos. Actualmente se desconoce la prevalencia de SARM y específicamente de SARM CC398 en la población general. Durante el segundo semestre del 2017, se realizará el estudio de prevalencia en la población general de Osona. Para ello se ha calculado el tamaño de la muestra considerando que podría ser entre 0,5 – 3% de la población. En este sentido se han seleccionado 6 centros de atención primaria. Se realizará un cuestionario específico y un frotis nasal a las personas que deseen participar del estudio. Las muestras se llevarán al servicio de Microbiología del Hospital Universitari de Vic, en donde se identificarán las cepas. Posteriormente las cepas de SARM se enviarán al Institut de Investigació Germans Trias i Pujol para la realización de la biología molecular. El proyecto se ha presentado en el comité de ética del Hospital Universitari de Vic y actualmente ya tiene su aprobación.

Prevalencia de SARM CC398 en pacientes ingresados.

En el segundo trabajo presentado en esta tesis, solo se identificaron los pacientes que fueron diagnosticados de SARM, es decir que fue aislado SARM ante la sospecha de una infección/colonización. Actualmente se ha planteado la realización de un proyecto con la intención de conocer la prevalencia de los pacientes que ingresan en el HUV. Para ello se realizarán durante 6 meses un frotis nasal y perineal a cada paciente que ingrese al hospital y que se desconozca el estado de portador de SARM. Las muestras seguirán el mismo circuito comentado anteriormente para la identificación microbiológica y biología molecular. El proyecto se ha presentado en el comité de ética del Hospital Universitari de Vic y actualmente ya tiene su aprobación.

Prevalencia de SARM CC398 en 21 Hospitales de Catalunya y Baleares

Como se sabe Catalunya es la comunidad autónoma con mayor densidad de cerdos. Actualmente se desconoce la prevalencia de SARM CC398 en Hospitales tanto en Catalunya como en España y es por ello que se planteó este estudio. Desde Febrero de 2016 hasta Febrero de 2017, se ha realizado un estudio multicéntrico de investigación en 21 Hospitales de Catalunya, coordinado por el HUV. El estudio se presentó y se invitó a participar a microbiólogos que pertenecen al grupo de Hospitales Comarcales de la Societat Catalana de Malalties Infeccioses i Microbiologia Clínica. Consistió en identificar todas las muestras de los pacientes con SARM y SASM con resistencia a la tetraciclina (Tet^R) dado que es conocido que la resistencia a la tetraciclina es un buen marcador para la identificación de SARM CC398. Se identificaron 215 muestras de 215 pacientes. Los dos Hospitales con mayor identificación de *S. aureus* Tet^R fueron el HUV y el Hospital de Manresa. En el momento de la realización de la tesis se están analizando las muestras por biología molecular.

Prevalencia de SARM CC398 en un matadero de cerdos.

Actualmente no se ha realizado ningún estudio en España para conocer la prevalencia de una población de riesgo de ser portador de SARM CC398 como son los trabajadores de un matadero de cerdos. Se contactó con el responsable de calidad de un matadero de cerdos y se coordinó la manera de realizar las muestras. Se presentó el proyecto al matadero, así como el consentimiento informado y la información del estudio al personal que deseaba participar. El proyecto fue aprobado por el comité de ética del HUV. Durante cuatro semanas se realizaron 344 frotis nasales de 344 trabajadores de diferentes secciones del matadero, tanto de trabajadores en contacto con animales vivos como con la carne de cerdo. En el momento de la realización de esta tesis, se están analizando las muestras en el servicio de Microbiología del HUV.

BIBLIOGRAFÍA

- Aires-de-Sousa M.** Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. *Clin Microbiol Infect* 2016. 23, 373 - 380.
- Alikhan A,** Lynch PJ, Eisen DB. Hidradenitis suppurativa: A comprehensive review. *J Am Acad Dermatol* 2009. 60, 539-61.
- Alt K,** Fetsch A, Schroeter A, Guerra B, Hammerl JA, Hertwig S, Senkov N, Geinets A, Mueller-Graf C, Braeunig J, Kaesbohrer A, Appel B, Hensel A, Tenhagen BA. Factors associated with the occurrence of MRSA CC398 in herds of fattening pigs in Germany. *BMC Vet. Res* 2011. 7, 69.
- Aman MJ,** Karauzum H, Bowden MG, Nguyen TL. Structural model of the pre-pore ring-like structure of Panton-Valentine leukocidin: providing dimensionality to biophysical and mutational data. *J Biomol Struct Dyn* 2010. 28, 1-12.
- Argudín MA,** Mendoza MC, Méndez FJ, Martín MC, Guerra B, Rodicio MR. Clonal complexes and diversity of exotoxin gene profiles in methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from patients in a Spanish hospital. *J. Clin. Microbiol* 2009. 47, 2097–2105.
- Argudín MA,** Tenhagen, BA, Fetsch, A, Sachsenröder J, Käsbohrer A, Schroeter A, Hammer JA, Hertwig S, Helmuth R, Bräunig J, Mendoza MC, Appe B, Rodicio MR, Guerra B. Virulence and resistance determinants of German *Staphylococcus aureus* ST398 isolates from nonhuman sources. *Appl Environ Microbiol* 2011. 77, 3052-60.
- Armand-Lefevre L,** Ruimy R, Andremont A. Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerg Infect Dis* 2005. 11, 711–4.
- Baldwin NS,** Gilpin DF, Hughes CM, Kearney MP, Gardiner DA, Cardwell C, Tunney MM. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in residents and staff in nursing homes in Northern Ireland. *J. Am. Geriatr. Soc* 2009. 57, 620–6.
- Becker K,** Ballhausen B, Köck R, Kriegeskorte A. Methicillin resistance in *Staphylococcus* isolates: The “mec alphabet” with specific consideration of *mecC*, a *mec* homolog associated with zoonotic *S. aureus* lineages. *Int. J Med Microbiol* 2014. 304 (7), 794-804.
- Belsky DS,** Teates CD, Hartman ML. Case report: diabetes mellitus as a predisposing factor in the development of pyomyositis. *Am J Med Sci* 1994. 308, 251-4.
- Benito D,** Lozano C, Rezusta A, Ferrer I, Vasquez MA, Ceballos S, Zarazaga M, Revillo MJ, Torres C. 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.
- Bens CC,** Voss A, Klaassen CHW. Presence of a novel DNA methylation enzyme in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with pig farming leads to uninterpretable results in standard pulsed-field gel electrophoresis analysis. *J Clin Microbiol* 2006. 44, 1875-76.
- BOE.** Ministerio de la presidencia 2000. Tipos de explotaciones. 9505–9512. <https://www.boe.es/boe/dias/2000/03/08/pdf>
- Bos ME,** Verstappen KM, Van Cleef BA, Dohmen W, Dorado-García A, Graveland H, Duim B, Wagenaar JA, Kluytmans JA, Heederik DJ. Transmission through air as a possible route of exposure for MRSA. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2014. 26, 1–7.

- Bosch T**, de Neeling AJ, Schouls LM, Van der Zwaluw KW, Kluytmans JA, Grundmann H, Huijsdens XW. PFGE diversity within the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal lineage ST398. *BMC Microbiol* 2010.10, 40.
- Bowen AC**, Mahé A, Hay RJ, Andrews RM, Steer AC, Tong SY, Carapetis JR. The global epidemiology of impetigo: A systematic review of the population prevalence of impetigo and pyoderma. *PLoS One* 2015. 10, e0136789.
- Bratzler D**, Dellinger E, Olsen K, Perl T, Auwaerter P, Bolon M, Fish D, Napolitano L, Sawyer R, Slain D, Steinberg J, Weinstein R. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Am J Heal Syst Pharm* 2013. 70, 195–283.
- Breurec S**, Zriouil SB, Fall C, Boisier P, Brisse S, Djibo S, Etienne J, Fonkoua MC, Perrier-Gros-Claude JD, Pouillot R, Ramarokoto CE, Randrianirina F, Tall A, Thiberge JM, Laurent F, Garin B. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages in five major African towns: Emergence and spread of atypical clones. *Clin Microbiol Infect* 2011. 17, 160–165.
- Broens EM**, Espinosa-Gongora C, Graat E, Vendrig N, Van Der Wolf PJ, Guardabassi L, Butaye P, Nielsen JP, De Jong MC, Van De Giessen AW. Longitudinal study on transmission of MRSA CC398 within pig herds. *BMC Vet Res* 2012. 8, 58.
- Broens EM**, Graat EA, Van Der Wolf PJ, Van De Giessen AW, De Jong MC. Prevalence and risk factor analysis of livestock associated MRSA-positive pig herds in The Netherlands. *Prev Vet Med* 2011a. 102, 41–49.
- Broens EM**, Graat EA, Van Der Wolf PJ, Van De Giessen AW, Van Duijkeren E, Wagenaar JA, Van Nes A, Mevius DJ, De Jong MC. MRSA CC398 in the pig production chain. *Prev Vet Med* 2011b. 98, 182–9.
- Budimir A**, Pal MP, Bonsjak Z, Marekovic I, Vukovic D, Krizan IR, Milas J, Plecko V, Kalenic S. Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in a multicenter study of nursing home residents in Croatia. *Am J Infect Control* 2014. 42, 1197–1202.
- Camoez M**, Sierra JM, Pujol M, Hornero A, Martin R, Domínguez MA. Prevalence and Molecular Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST398 Resistant to Tetracycline at a Spanish Hospital over 12 Years. *PLoS One* 2013. 8, e72828.
- Campanile F**, Bongiorno D, Borbone S, Stefani S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Evolution—The Multiple Facets of an Old Pathogen. *Eur Infect Dis* 2010. 70-6.
- Campanile F**, Bongiorno D, Falcone M, Vailati F, Pasticci MB, Perez M, Raglio A, Rumpianesi F, Scuderi C, Suter F, Venditti M, Venturelli C, Ravasio V, Codeluppi M, Stefani S. Changing Italian nosocomial-community trends and heteroresistance in *Staphylococcus aureus* from bacteremia and endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012. 31, 739-45.
- Centers for Disease Control and Prevention**. Active Bacterial Core Surveillance Report, Emerging Infections Program Network, Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* 2012. 5, 1–3.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC)**. Four pediatric deaths from community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* - Minnesota and North Dakota, 1997-1999. *Conn. Med* 1999. 63, 543-45.
- Chambers HF**. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*?, in: *Emerg Infect Dis* 2001. 7, 178-82.
- Chambers HF**, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat. Rev. Microbiol* 2009. 7, 629-41.

- Chamis AL**, Peterson GE, Cabell CH, Corey GR, Sorrentino RA, Greenfield RA, Ryan T, Reller LB, Fowler Jr. VG. *Staphylococcus aureus* bacteremia in patients with permanent pacemakers or implantable cardioverter-defibrillators. *Circulation* 2001. 104, 1029-33.
- Chang FY**, MacDonald BB, Peacock JE, Musher DM, Triplett P, Mylotte JM, O'Donnell A, Wagener MM, Yu VL. A Prospective Multicenter Study of *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Medicine (Baltimore)* 2003. 82, 322-32.
- Chen H**, Liu Y, Jiang X, Chen M, Wang H. Rapid change of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in a Chinese Tertiary Care Hospital over a 15-year period. *Antimicrob Agents Chemother* 2010. 54, 1842–1847.
- Chini V**, Petinaki E, Foka A, Paratiras S, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Spread of *Staphylococcus aureus* clinical isolates carrying Panton-Valentine leukocidin genes during a 3-year period in Greece. *Clin Microbiol Infect* 2006. 12, 29–34.
- Chuang YY**, Huang YC. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Asia: An emerging issue? *Int J Antimicrob Agents* 2015. 45, 334-40.
- CLSI**. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20th Informational Supplement. CLSI document M100-S20. Wayne, pa: Clinical and laboratory standards institute 2014.
- Cohen PR**. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin infections: implications for patients and practitioners. *Am J Clin Dermatol* 2007. 8, 259-70.
- Consejo de la UE**. Official Journal of the European Union [WWW Document]. 2009. URL <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:047:0005:0013:ES:PDF>
- Coombs GW**, Pearson JC, O'Brien FG, Murray RJ, Grubb WB, Christiansen KJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones, Western Australia. *Emerg Infect Dis* 2006. 12, 241-47.
- Cox, R.A.**, Bowie, P.E.,. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in nursing home residents: a prevalence study in Northamptonshire. *J Hosp Infect* 1999. 43, 115-22.
- Crombé F**, Willems G, Dispas M, Hallin M, Denis O, Suetens C, Gordts B, Struelens M, Butaye P. Prevalence and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among pigs in Belgium. *Microb Drug Resist* 2012. 18, 125-31.
- Crum NF**. Bacterial pyomyositis in the United States. *Am J Med* 2004.
- Dahms C**, Hübner NO, Cuny C, Kramer A. Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in farm workers and the livestock environment in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. *Acta Vet Scand* 2014. 56, 53.
- Dajani AS**, Ferrieri P, Wannamaker LW,. Natural history of impetigo. II. Etiologic agents and bacterial interactions. *J Clin Invest* 1972. 51, 2863-71.
- Dancer SJ**, Noble WC. Nasal, axillary, and perineal carriage of *Staphylococcus aureus* among women: identification of strains producing epidermolytic toxin. *J Clin Pathol* 1991. 44, 681–4.
- David MZ**, Daum RS. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microbiol Rev* 2010. 23, 616-87.
- DeLeo FR**, Otto M, Kreiswirth BN, Chambers HF,. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2010. 375, 1557-68.
- Denis O, Jans B, Deplano A, Nonhoff C, De Ryck R, Suetens C, Struelens MJ**,. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among residents of nursing homes in Belgium. *J Antimicrob Chemother* 2009. 64, 1299–1306.

- Departament d'Agricultura, Ramaderia, P. i A.**, 2015. Enquesta de sacrifici anual Catalunya i demarcacions territorials 2015. URL http://agricultura.gencat.cat/web/.content/de_departament/de02_estadistiques_observatoris/02_estructura_i_produccio/03_estadistiques_ramaderes/07_enquesta_sacrifici_escorxadors/arxius_estatics/WEB_Sacrifici_2015.pdf (accessed 9.1.16).
- Deurenberg RH**, Stobberingh, E.E.,. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infect Genet Evol 2008. 8, 747-63.
- Devriese LA**, Van Damme, LR, Fameree L. Methicillin (cloxacillin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis cases. Zentralbl Vet 1972. 19, 598–605.
- Dominguez MA**, Coll P, Coque MT, Vazquez J, Vila J. Procedimientos en Microbiología Clínica, SEIMC. 2005. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia30.pdf>
- Donnio PY**, Preney L, Gautier-Lerestif AL, Avril JL, Lafforgue N. Changes in staphylococcal cassette chromosome type and antibiotic resistance profile in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a French hospital over an 11 year period. J Antimicrob Chemother 2004. 53, 808–813.
- Dufour P**, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, Etienne J, Richet H. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. Clin. Infect. Dis 2002. 35, 819–24.
- Ebright J**, Abrams J, Levine D. Splenic Infarction and Abscess in the Setting of. Infect Dis Clin Pract 2007. 15, 17–21.
- El-Ahdab F**, Benjamin DK, Wang A, Cabell CH, Chu VH, Stryjewski ME, Corey GR, Sexton DJ, Reller LB, Fowler VG. Risk of endocarditis among patients with prosthetic valves and *Staphylococcus aureus* bacteremia. Am J Med 2005. 118, 225–229.
- Enright MC**, Day NP, Davies CE, Peacock SJ, Spratt BG. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2000. 38, 1008-15.
- Enright MC**, Robinson, DA, Randle G, Feil EJ, Grundmann H, Spratt BG. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Proc Natl Acad Sci U.S.A. 2002. 99, 7687-92.
- Eriksen NH**, Espersen F, Thamdrup Rosdahl V, Jensen K. Carriage of *Staphylococcus aureus* among 104 healthy persons during a 19-month period. Epidemiol Infect 1995. 115, 51-60.
- Espersen F**, Frimodt-Møller N, Thamdrup Rosdahl V, Skinhøj P, Bentzon MW. Changing pattern of bone and joint infections due to *Staphylococcus aureus*: study of cases of bacteremia in Denmark, 1959-1988. Rev. Infect. Dis 1991. 13, 347–58.
- Etienne J**. Panton-Valentine leukocidin: a marker of severity for *Staphylococcus aureus* infection?. Clin Infect Dis 2005. 41, 591-93.
- Feil EJ**, Cooper JE, Grundmann H, Robinson DA, Enright MC, Berendt T, Peacock SJ, Smith JM, Murphy M, Spratt BG, Moore CE, Day NP. How clonal is *Staphylococcus aureus*?. J Bacteriol 2003. 185, 3307-16.
- Feingold BJ**, Silbergeld EK, Curriero FC, Van Cleef, BA, Heck ME, Kluytmans JA.,. Livestock density as risk factor for livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, the Netherlands. Emerg Infect 2012. Dis. 18, 1841-49.

- Firth N**, Skurray RA. Genetics: accessory elements and genetic exchange, in: Gram-Positive Pathogens 2006. pp. 413–26.
- Fitzgerald JR**. Livestock-associated *Staphylococcus aureus*: Origin, evolution and public health threat. Trends Microbiol 2012. 20, 192-8.
- Foster TJ**. Immune evasion by staphylococci. Nat Rev Microbiol 2005. 3, 948-58.
- Fowler VG**, Justice A, Moore C, Benjamin DK, Woods CW, Campbell S, Reller LB, Corey GR, Day NP, Peacock SJ. Risk factors for hematogenous complications of intravascular catheter-associated *Staphylococcus aureus* bacteremia. Clin Infect Dis 2005. 40, 695-703.
- Frenay HM**, Bunschoten AE, Schouls LM, Van Leeuwen WJ, Vandenbroucke-Grauls CM, Verhoef J, Mooi FR,. Molecular typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the basis of protein A gene polymorphism. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996. 15, 60-4.
- Frenay HM**, Theelen JP, Schouls LM, Vandenbroucke-Grauls CM, Verhoef J, Van Leeuwen WJ, Mooi FR. Discrimination of epidemic and nonepidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains on the basis of protein A gene polymorphism. J Clin Microbiol 1994. 32, 846-7.
- Friedman ND**, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, Lamm W, Clark C, MacFarquhar J, Walton AL, Reller LB, Sexton DJ. Health care-associated bloodstream infections in adults: A reason to change the accepted definition of community-acquired infections. Ann Intern Med 2002. 137, 791-97.
- García-Álvarez L**, Holden MT, Lindsay H, Webb CR, Brown DF, Curran MD, Walpole E, Brooks K, Pickard DJ, Teale C, Parkhill J, Bentley SD, Edwards GF, Girvan EK, Kearns AM, Pichon B, Hill RL, Larsen AR, Skov RL, Peacock SJ, Maskell DJ, Holmes MA,. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: A descriptive study. Lancet Infect Dis 2011. 11, 595-603.
- Garcia-Graells C**, Antoine J, Larsen J, Catry B, Skov R, Denis O. Livestock veterinarians at high risk of acquiring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398. Epidemiol. Infect 2012. 140, 383-9.
- Garcia-Garrote F**, Cercenado E, Marin M, Bal M, Trincado P, Corredoira J, Ballesteros C, Pita J, Alonso P, Vindel A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the *mecC* gene: Emergence in Spain and report of a fatal case of bacteraemia. J Antimicrob Chemother 2014. 69, 45–50.
- Gaynes R**, Edwards JR. National Nosocomial Infections Surveillance. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. Clin Infect Dis 2005. 41, 848-54.
- Ghaznavi-Rad E**, Shamsudin MN, Sekawi Z, Khoon LY, Aziz MN, Hamat RA, Othman N, Chong PP, Van Belkum A, Ghasemzadeh-Moghaddam H, Neela V. Predominance and emergence of clones of hospital-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Malaysia. J Clin Microbiol 2010. 48, 867-72.
- Gibbs SG**, Green CF, Tarwater PM, Mota LC, Mena KD, Scarpino PV. Isolation of antibiotic-resistant bacteria from the air plume downwind of a swine confined or concentrated animal feeding operation. Environ Health Perspect 2006. 114, 1032-37.
- Gómez-Sanz E**, Torres C, Lozano C, Fernández-Pérez R, Aspiroz C, Ruiz-Larrea F, Zarazaga M,. Detection, molecular characterization, and clonal diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 and CC97 in Spanish slaughter pigs of different age groups. Foodborne Pathog Dis 2010. 7, 1269-77.

- Gómez P**, Lozano C, Camacho MC, Lima-Barbero JF, Hernández JM, Zarazaga M, Höfle Ú, Torres C. Detection of MRSA ST3061-t843-*mecC* and ST398-t011-*mecA* in white stork nestlings exposed to human residues. *J Antimicrob Chemother* 2016. 71, 53–57.
- Gordon RJ**, Lowy FD,. Pathogenesis of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Clin Infect Dis* 2008. 46, S350–S359.
- Graveland H**, Wagenaar JA, Heesterbeek H, Mevius D, Van Duijkeren E, Heederik D. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in veal calf farming: Human MRSA carriage related with animal antimicrobial usage and farm hygiene. *PLoS One* 2010. 5, e10990.
- Graveland H**, Wagenaar JA, Bergs K, Heesterbeek H, Heederik D. Persistence of livestock associated MRSA CC398 in humans is dependent on intensity of animal contact. *PLoS One* 2011. 6, e16830.
- Grisold AJ**, Zarfel G, Hoenigl M, Krziwanek K, Feierl G, Masoud L, Leitner E, Wagner-Eibel U, Badura A, Marth E. Occurrence and genotyping using automated repetitive-sequence-based PCR of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in Southeast Austria. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010. 66, 217–221.
- Grundmann H**, Aanensen DM, Van Den Wijngaard CC, Spratt BG, Harmsen D, Friedrich AW, Sabat AJ, Muilwijk J, Monen J, Tami A, Donker T, Mittermayer H, Krziwanek K, Stumvoll S, Koller W, Denis O, Struelens M, Nashev D, Budimir A, Kalenic S, Pieridou-Bagatzouni D, Jakubu V, Zemlickova H, et al. Geographic distribution of *Staphylococcus aureus* causing invasive infections in Europe: A molecular-epidemiological analysis. *PLoS Med* 2010. 7, e1000215.
- Guinan ME**, Dan BB, Guidotti RJ, Reingold AL, Schmid GP, Bettoli EJ, Lossick JG, Shands KN, Kramer MA, Hargrett NT, Anderson RL, Broome CV,. Vaginal colonization with *Staphylococcus aureus* in healthy women. A review of four studies. *Ann Intern Med* 1982. 96, 944-7.
- Hallin M**, De Mendonça R, Denis O, Lefort A, El Garch F, Butaye P, Hermans K, Struelens MJ,. Diversity of accessory genome of human and livestock-associated ST398 methicillin resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Infect Genet Evol* 2011. 11, 290-9.
- Harmsen D**, Claus H, Witte W, Rothgänger J, Claus H, Turnwald D, Vogel U. Typing of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a University Hospital Setting by Using Novel Software for spa Repeat Determination and Database Management. *J Clin Microbiol* 2003. 41, 5442–5448.
- Harris SR**, Feil EJ, Holden MT, Quail MA, Nickerson EK, Chantratita N, Gardete S, Tavares A, Day N, Lindsay JA, Edgeworth JD, De Lencastre H, Parkhill J, Peacock SJ, Bentley SD. Evolution of MRSA During Hospital Transmission and Intercontinental Spread. *Science* 2010. 327, 469-74.
- Hewitt WD**, Farrar WE. Bacteremia and ecthyma caused by *Streptococcus pyogenes* in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med Sci* 1988. 295, 52-4.
- Hidron AI**, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollock DA, Fridkin SK. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: Annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008. 29, 996-1011.
- Hirschmann JV**. Impetigo: Etiology and therapy. *Curr Clin Top Infect Dis* 2002. 22, 42–51
- Huber H**, Giezendanner N, Stephan R, Zweifel C. Genotypes, Antibiotic Resistance Profiles and Microarray-Based Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Livestock and Veterinarians in Switzerland. *Zoonoses Public Health* 2011. 58, 343–349.

- Huber H**, Koller S, Giezendanner N, Stephan R, Zweifel C. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock, and in food of animal origin, Switzerland, 2009. Euro Surveill 2010. 15, pii: 19542.
- Hudson LO**, Reynolds C, Spratt BG, Enright MC, Quan V, Kim D, Hannah P, Mikhail L, Alexander R, Moore DF, Godoy D, Bishop CJ, Huang SS. Diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from residents of 26 nursing homes in Orange County, California. J Clin Microbiol 2013. 51, 3788-95.
- Huijsdens XW**, Bosch T, Van Santen-Verheuevel MG, Spalburg E, Pluister GN, Van Luit M, Heck ME, Haenen A, De Neeling AJ. Molecular characterisation of PFGE non-typable methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in The Netherlands, 2007. Euro Surveill 2009. 14, pii: 19335.
- Huijsdens XW**, Van Dijke BJ, Spalburg E, Van Santen-Verheuevel MG, Heck ME, Pluister GN, Voss A, Wannet WJ, De Neeling AJ. Community-acquired MRSA and pig-farming. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2006. 5, 26.
- Idescat** (Institut D'Estadística de Catalunya), 2014. Anuari estadístic de Catalunya. Agricultura, ramaderia i pesca. Ramaderia. Explotacions ramaderes. Per espècies. Comarques, àmbits i províncies. Explotacions. Catalunya: Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi natural. <http://www.idescat.cat/pub/aec/454>
- Jansen van Rensburg MJ**, Eliya Madikane V, Whitelaw A, Chachage M, Haffejee S, Gay Elisha B. The dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone from hospitals in Cape Town has an unusual genotype: ST612. Clin Microbiol Infect 2011. 17, 785–792.
- Jevons, MP**. "Celbenin"- Resistant Staphylococci. BMJ. 1961. 1, 124–125.
- Johnson JD**, Raff MJ, Barnwell PA, Chun CH. Splenic abscess complicating infectious endocarditis. Arch Intern Med 1983. 143, 906–12.
- Kadlec K**, Ehricht R, Monecke S, Steinacker U, Kaspar H, Mankertz J, Schwarz S. Diversity of antimicrobial resistance pheno- and genotypes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from diseased swine. J Antimicrob Chemother 2009. 64, 1156-1164.
- Köck R**, Loth B, Köksal M, Schulte-Wülwer J, Harlizius J, Friedrich AW,. Persistence of nasal colonization with livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farmers after holidays from pig exposure. Appl Environ Microbiol 2012. 78, 4046-7.
- Köck R**, Schaumburg F, Mellmann A, Köksal M, Jurke A, Becker K, Friedrich AW. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) as causes of human infection and colonization in Germany. PLoS One 2013. 8, e55040.
- Köck R**, Siam K, Al-Malat S, Christmann J, Schaumburg F, Becker K, Friedrich AW. Characteristics of hospital patients colonized with livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 versus other MRSA clones. J Hosp Infect 2011. 79, 292–296.
- Krziwanek K**, Metz-Gercek S, Mittermayer H. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from human patients, upper Austria. Emerg. Infect. Dis 2009. 15, 766–769.
- Larsen AR**, Stegger M, Böcher S, Sørnum M, Monnet DL, Skov RL. Emergence and characterization of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in denmark, 1999 to 2006. J Clin Microbiol 2009. 47, 73–78.
- Laureano AC**, Schwartz RA, Cohen PJ,. Facial bacterial infections: Folliculitis. Clin Dermatol 2014. 32, 711-14.

- Laurent F**, Chardon H, Haenni M, Bes M, Reverdy ME, Madec JY, Lagier E, Vandenesch F, Tristan A. MRSA harboring *mecA* variant gene *mecC*, France. *Emerg Infect Dis* 2012. 18, 1465–1467.
- Le Moing V**, Alla F, Doco-Lecompte T, Delahaye F, Piroth L, Chirouze C, Tattevin P, Lavigne JP, Erpelding ML, Hoen B, Vandenesch F, Duval X, Curlier E, Descottes-Genon C, Patry I, Vettoretti L, Chavanet P, Eicher JC, Gohier-Treuvelet S, Greusard MC, et al. *Staphylococcus aureus* bloodstream infection and endocarditis - A prospective cohort study. *PLoS One* 2015. 10, e0127385.
- Lee BK**, Crossley K., Gerding D.N.,. The association between *Staphylococcus aureus* bacteremia and bacteriuria. *Am J Med* 1978. 65, 303-6.
- Lekkerkerk WS**, Van De Sande-Bruinsma N, Van Der Sande MA, Tjon-A-Tsien A, Groenheide A, Haenen A, Timen A, Van Den Broek PJ, Van Wamel WJ, De Neeling AJ, Richardus JH, Verbrugh HA, Vos, MC. Emergence of MRSA of unknown origin in the Netherlands. *Clin Microbiol Infect* 2012. 18, 656-61.
- Li S**, Skov RL, Han X, Larsen AR, Larsen J, Sørum M, Wulf M, Voss A, Hiramatsu K, Ito T. Novel types of Staphylococcal cassette chromosome *mec* elements identified in clonal complex 398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2011. 55, 3046-50.
- Lina G**, Piémont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, Vandenesch F, Etienne J. Pie Y. Involvement of Panton-Valentine Leukocidin – Producing *Staphylococcus aureus* in Primary Skin Infections and Pneumonia. *Clin Infect Dis* 1985. 29 (5), 1128-32.
- Lindsay JA**. Genomic variation and evolution of *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol* 2010. 300, 98-103.
- Lindsay JA**, Moore CE, Day NP, Peacock SJ, Witney AA, Stabler RA, Husain SE, Butcher PD, Hinds J.. Microarrays reveal that each of the ten dominant lineages of *Staphylococcus aureus* has a unique combination of surface-associated and regulatory genes. *J Bacteriol* 2006. 188, 669-76.
- Liu C**, Bayer A, Cosgrove SE, Daum RS, Fridkin SK, Gorwitz RJ, Kaplan SL, Karchmer AW, Levine DP, Murray BE, Rybak MJ, Talan DA, Chambers HF. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in adults and children: Executive summary. *Clin Infect Dis* 2011. 52, 285–292.
- Lo W.T**, Tang CS, Chen SJ, Huang CF, Tseng MH, Wang CC. Panton-Valentine leukocidin is associated with exacerbated skin manifestations and inflammatory response in children with community-associated Staphylococcal scarlet fever. *Clin Infect Dis* 2009. 49, e69–e75.
- Lowy F**. *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med* 1998. 339, 520–532.
- Lozano C**, Aspiroz C, Rezusta A, Gómez-Sanz E, Simon C, Gómez P, Ortega C, Revillo MJ, Zarazaga M, Torres C,. Identification of novel *vga(A)*-carrying plasmids and a Tn5406-like transposon in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* of human and animal origin. *Int. J. Antimicrob. Agents* 2012a. 40, 306-12.
- Lozano C**, Aspiroz C, Sáenz Y, Ruiz-García M, Royo-García G, Gómez-Sanz E, Ruiz-Larrea F, Zarazaga M, Torres C. 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* 2012b. 67, 2804-8.
- Lozano C**, Gharsa H, Ben Slama K, Zarazaga M, Torres C,. *Staphylococcus aureus* in Animals and Food: Methicillin Resistance, Prevalence and Population Structure. A Review in the African Continent. *Microorganisms* 2016. 4, 12.

- Lozano C**, Gómez-Sanz E, Benito D, Aspiroz C, Zarazaga M, Torres C. *Staphylococcus aureus* nasal carriage, virulence traits, antibiotic resistance mechanisms, and genetic lineages in healthy humans in Spain, with detection of CC398 and CC97 strains. *Int J Med Microbiol* 2011. 301, 500–505.
- Lozano C**, Porres-Osante N, Crettaz J, Rojo-Bezares B, Benito D, Olarte I, Zarazaga M, Sáenz Y, Torres C. Changes in genetic lineages, resistance, and virulence in clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a Spanish hospital. *J Infect Chemother* 2013. 19, 233–242.
- Lozano C**, Rezusta A, Gómez P, Gómez-Sanz E, Báez N, Martín-Saco G, Zarazaga M, Torres C. High prevalence of *spa* types associated with the clonal lineage CC398 among tetracycline-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains in a Spanish hospital. *J. Antimicrob. Chemother* 2012c. 67, 330-4.
- Lucet JC**, Paoletti X, Demontpion C, Degrave M, Vanjak D, Vincent C, Andremont A, Jarlier V, Mentré F, Nicolas-Chanoine MH. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in home care settings: prevalence, duration, and transmission to household members. *Arch Intern Med* 2009. 169, 1372-8.
- Luelmo-Aguilar J**, Santandreu MS. Folliculitis: Recognition and management. *Am J Clin Dermatol* 2004. 5, 301-10.
- Manzur A**, Gavalda L, Ruiz De Gopegui E, Mariscal D, Dominguez MA, Perez JL, Segura F, Pujol M,. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and factors associated with colonization among residents in community long-term-care facilities in Spain. *Clin Microbiol Infect* 2008. 14, 867–872.
- Maree CL**, Daum RS, Boyle-Vavra S, Matayoshi K, Miller LG. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates causing healthcare-associated infections. *Emerg Infect Dis* 2007. 13, 236–242.
- McCarthy AJ**, Van Wamel W, Vandendriessche S, Larsen J, Denis O, Garcia-Graells C, Uhlemann AC, Lowy FD, Skov R, Lindsay JA. *Staphylococcus aureus* CC398 clade associated with human-to-human transmission. *Appl Environ Microbiol* 2012. 78, 8845-8.
- McNamara DR**, Tleyjeh IM, Barbari EF, Lahr BD, Martinez J, Mirzoyev SA, Baddour LM. A predictive model of recurrent lower extremity cellulitis in a population-based cohort. *Arch Intern Med* 2007. 167, 709–715.
- Mediavilla JR**, Chen L, Mathema B, Kreiswirth BN. Global epidemiology of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA). *Curr. Opin. Microbiol* 2012.
- Ministerio de Agricultura, A. y M.A.**, 2014. Encuestas ganaderas, 2014. Ganado porcino. URL http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/resultados_definitivos_nov14_porcino_parawebmagrama_tcm7-387437.pdf (accessed 11.15.15).
- Moodley A**, Oosthuysen WF, Dusé AG, Marais E, Brink A, Coetzee G, Mogale J, Mahlali S, Badenhorst L, Fick K, Botha E, Jordaan C, Janse Van Rensburg MN, Botha M, Ho L, Botha F, Hari-Makkan D, Perovic O, Antelme D, et al. Molecular Characterization of Clinical Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates in South Africa. *J Clin Microbiol* 2010. 48, 4608-11.
- Morcillo A**, Castro B, Rodríguez-Álvarez C, González JC, Sierra A, Montesinos MI, Abreu R, Arias Á. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and pig workers in Tenerife, Spain. *Foodborne Pathog Dis* 2012. 9, 207–10.
- Muder RR**, Brennen C, Rihs JD, Wagener MM, Obman A, Stout JE, Yu VL,. 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.

- Mulders MN**, Haenen AP, Geenen, PL, Vesseur PC, Poldervaart ES, Bosch T, Huijsdens XW, Hengeveld PD, Dam-Deisz WD, Graat EA, Mevius D, Voss A, Van De Giessen AW. Prevalence of livestock-associated MRSA in broiler flocks and risk factors for slaughterhouse personnel in The Netherlands. *Epidemiol. Infect* 2010. 138, 743-55.
- Murchan S**, Kaufmann ME, Deplano A, De Ryck R, Struelens M, Zinn CE, Fussing V, Salmenlinna S, Vuopio-Varkila J, El Solh N, Cuny C, Witte W, Tassios PT, Legakis N, Van Leeuwen W, Van Belkum A, Vindel A, Laconcha I, Garaizar J, Haeggman S, Olsson-Liljequist B, Ransjö U, Coombes G, Cookson B. Harmonization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for epidemiological typing of strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A single approach developed by consensus in 10 European laboratories and its application for tracing the spre. *J Clin Microbiol* 2003. 41, 1574-85.
- Murdoch DR**, Roberts SA, Fowler Jr VG, Shah MA, Taylor SL, Morris AJ, Corey GR. Infection of orthopedic prostheses after *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2001. 32, 647-9.
- Nadji G**, Réyadi JP, Coviaux F, Mirode AA, Brahim A, Enriquez-Sarano M, Tribouilloy C. Comparison of clinical and morphological characteristics of *Staphylococcus aureus* endocarditis with endocarditis caused by other pathogens. *Heart* 2005. 91, 932-7.
- Ogston A**. Micrococcus Poisoning. *J. Anat. Physiol* 1882. 17, 24-58.
- Oppliger A**, Moreillon P, Charrière N, Giddey M, Morisset D, Sakwinska O. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains acquired by pig farmers from pigs. *Appl Environ Microbiol* 2012. 78, 8010-4.
- Otter JA**, French GL. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains as a cause of healthcare-associated infection. *J Hosp Infect* 2011. 79, 189-93.
- Pan A**, Battisti A, Zoncada A. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 infection, Italy. *Emerg Infect Dis* 2009. 15, 845-47.
- Paterson GK**, Harrison EM, Holmes MA,. The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 2014. 22, 42-47.
- Perez-Jorge E V**, Burdette SD, Markert RJ, Beam WB. *Staphylococcus aureus* bacteremia (SAB) with associated *S. aureus* bacteriuria (SABU) as a predictor of complications and mortality. *J Hosp Med* 2010. 5, 208-11.
- Petersen A**, Stegger M, Heltberg O, Christensen J, Zeuthen A, Knudsen LK, Urth T, Sorum M, Schouls L, Larsen J, Skov R, Larsen AR,. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying the novel *mecC* gene in Denmark corroborates a zoonotic reservoir with transmission to humans. *Clin Microbiol Infect* 2013. 19, E16-22.
- Pfingsten-Würzburg S**, Pieper DH, Bautsch W, Probst-Kepper M. Prevalence and molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in nursing home residents in northern Germany. *J Hosp Infect* 2011. 78, 108-12.
- Pintado V**, Meseguer MA, Fortún J, Cobo J, Navas E, Quereda C, Corral I, Moreno S. Clinical study of 44 cases of *Staphylococcus aureus* meningitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002. 21, 864-68.
- Porrero MC**, Harrison E, Fernández-Garayzábal JF, Paterson GK, Díez-Guerrier A, Holmes MA, Domínguez L. Detection of *mecC*-Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in river water: A potential role for water in the environmental dissemination. *Environ. Microbiol* 2014. 6, 705-08.

- Price LB**, Stegger M, Hasman H, Aziz M, Larsen J, Andersen PS, Pearson T, Waters AE, Foster JT, Schupp J, Gillece J, Driebe E, Liu CM, Springer B, Zdovc I, Battisti A, Franco A, Zmudzki J, Schwarz S, Butaye P, Jouy E, Pomba C, Porrero MC, Ruimy R, Smith TC, Robinson DA, Weese JS, Arriola CS, Yu F, Laurent F, Keim P, Skov R, Aarestrup FM. *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. *MBio* 2012. 3, e00305-11.
- Que M**. *Staphylococcus aureus*, in: Mandell GL, Bennett JE, D.R. (Ed.), Principles and Practice of Infectious Diseases. Churchill Philadelphia: Livingstone, Elsevier, 2010. pp. 2543-78.
- Rammelkamp CH**, Maxon T. Resistance of *Staphylococcus aureus* to the action of penicilin. *Proc R Soc Exper Biol Med* 1942. 386-89.
- Rasigade JP**, Laurent F, Hubert P, Vandenesch F, Etienne J. Lethal necrotizing pneumonia caused by an ST 398 *Staphylococcus aureus* strain. *Emerg Infect Dis* 2010. 16, 1330.
- Richter A**, Sting R, Popp C, Rau J, Tenhagen BA, Guerra B, Hafez HM, Fetsch A. Prevalence of types of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in turkey flocks and personnel attending the animals. *Epidemiol Infect* 2012. 140, 1–10.
- Rimland D**, Roberson B. Gastrointestinal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 1986. 24, 137-38.
- Rodríguez-Noriega E**, Seas C, Guzmán-Blanco M, Mejía C, Alvarez C, Bavestrello L, Zurita J, Labarca J, Luna CM, Salles MJ, Gotuzzo E. Evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in Latin America. *Int J Infect Dis* 2010. 14, e560-e566.
- Rollason J**, Bastin L, Hilton AC, Pillay DG, Worthington T, McKeon C, De P, Burrows K, Lambert PA. Epidemiology of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* obtained from the UK West Midlands region. *J Hosp Infect* 2008. 70, 314–320.
- Sabat AJ**, Koksall M, Akkerboom V, Monecke S, Kriegeskorte A, Hendrix R, Ehricht R, Köck R, Becker K, Friedrich AW. Detection of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains that carry a novel genetic homologue and important virulence determinants. *J Clin Microbiol* 2012. 50, 3374-77.
- Salmenlinna S**, Vuopio-Varkila J. Recognition of two groups of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains based on epidemiology, antimicrobial susceptibility, hypervariable-region type, and ribotype in Finland. *J. Clin Microbiol* 2001. 39, 2243–2247.
- Saravolatz LD**, Pohlod DJ, Arking LM. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections: A New Source for Nosocomial Outbreaks. *Ann Intern Med* 1982. 97, 325.
- Schaumburg F**, Köck R, Mellmann A, Richter L, Hasenberg F, Kriegeskorte A, Friedrich AW, Gatermann S, Peters G, Von Eiff C, Becker K, Abele-Horn M, Albert F, Anders A, et al. Population dynamics among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in Germany during a 6-year period. *J Clin Microbiol* 2012. 50, 3186-92.
- Schulz J**, Friese A., Klees S, Tenhagen BA, Fetsch A, Rösler U, Hartung J. 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.
- Scudeller L**, Leoncini O, Boni S, Navarra A, Rezzani A, Verdirosi S, Maserati R. MRSA carriage: The relationship between community and healthcare setting. A study in an Italian hospital. *J Hosp Infect* 2000. 46, 222–229.

Sellheyer K, Krahl, D.,. “Hidradenitis suppurativa” is acne inversa! An appeal to (finally) abandon a misnomer. *Int J Dermatol* 2005. 44, 535-40.

Shang Wei Wu, De Lencastre H, Tomasz A. Recruitment of the *mecA* gene homologue of *Staphylococcus sciuri* into a resistance determinant and expression of the resistant phenotype in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol* 2001. 183, 2417-24.

Shenoy ES, Paras ML, Noubary F, Walensky RP, Hooper DC. Natural history of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant Enterococcus (VRE): a systematic review. *BMC Infect Dis* 2014. 14, 177.

Shore AC, Deasy EC, Slickers P, Brennan G, O’Connell B, Monecke S, Ehricht R, Coleman DC. Detection of staphylococcal cassette chromosome mec type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother* 2011. 55, 3765-73.

Slingerland BC, Tavakol M, McCarthy AJ, Lindsay JA, Snijders S V, Wagenaar JA, Van Belkum A, Vos MC, Verbrugh HA, Van Wamel WJ. Survival of *Staphylococcus aureus* ST398 in the Human Nose after Artificial Inoculation. *PLoS One* 2012. 7, e48896.

Smith TC, Pearson N. The emergence of *Staphylococcus aureus* ST398. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2011. 11, 327-39.

Song JH, Hsueh PR, Chung DR, Ko KS, Kang CI, Peck KR, Yeom JS, Kim SW, Chang HH, Kim YS, Jung SI, Son JS, Man-Kit So T, Lalitha MK, Yang Y, Huang SG, Wang H, Lu Q, Carlos CC, Perera JA, Chiu CH, Liu JW, Chongthaleong A, Thamlikitkul V, Hung Van P. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between the community and the hospitals in Asian countries: An ANSORP study. *J Antimicrob Chemother* 2011. 66, 1061- 69.

Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, Friedrich AW, Kearns AM, Westh H, MacKenzie FM. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): Global epidemiology and harmonisation of typing methods. *Int J Antimicrob Agents* 2012. 39, 273-82.

Stegger M, Wirth T, Andersen PS, Skov RL, De Grassi A, Simoes, P.M., Tristan, A., Petersen, A., Aziz, M., Kill, K., Cirkovic I, Udo EE, Del Campo R, Vuopio-Varkila J, Ahmad N, Tokajian S, Peters G, Schaumburg F, Olsson-Liljequist B, Givskov M, Driebe EE, Vigh HE, Shittu A, Ramdani-Bougessa N, Rasigade JP, Price LB, Vandenesch F, Larsen AR, Laurent F. Origin and evolution of European community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *MBio* 2014. 5, e01044-14.

Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Dellinger EP, Goldstein EJ, Gorbach SL, Hirschmann JV, Kaplan SL, Montoya JG, Wade JC, Infectious Diseases Society of America. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft tissue infections: 2014 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2014. 59, e10–e52.

Stewart GT, Holt R,. Evolution of natural resistance to the newer penicillins. *Br. Med. J.* 1963. 1, 308–311.

Tande AJ, Palraj BR, Osmon DR, Barbari EF, Baddour LM, Lohse CM, Steckelberg JM, Wilson WR, Sohail MR,. Clinical Presentation, Risk Factors, and Outcomes of Hematogenous Prosthetic Joint Infection in Patients with *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *J Med* 2016. 129, 11-221.

- Tenover FC**, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: Criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995. 33, 2233-39.
- Ting W**, Silverman NA, Arzouman DA, Levitsky S. Splenic septic emboli in endocarditis. *Circulation* 1990. 82, IV105-9.
- Tong SY**, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clin Microbiol Rev* 2015. 28, 603-61.
- Udo EE**,. Genetic analysis of community isolates of *Staphylococcus aureus* in Western. *J Hosp Infect* 1993. 25, 97-108.
- Valentin-Domelier AS**, Girard, M., Bertrand X, Violette J, François P, Donnio PY, Talon D, Quentin R, Schrenzel J, Van Der Mee-Marquet N. Methicillin-susceptible ST398 *Staphylococcus aureus* responsible for bloodstream infections: An emerging human-adapted subclone? *PLoS One* 2011. 6, e28369.
- Van Belkum A**,. Methicillin-Resistant and -Susceptible *Staphylococcus aureus* Sequence Type 398 in Pigs and Humans. *Emerg Infect Dis* 2008. 14, 479-83.
- Van Belkum A**, Van Leeuwen W, Kaufmann ME, Cookson B, Forey F, Etienne J, Goering R, Tenover F, Steward, C., O'Brien F, Grubb W, Tassios P, Legakis N, Morvan A, El Solh N, De Ryck R, Struelens M, Salmenlinna S, Vuopio-Varkila J, Kooistra M, Talens A, Witte W, Verbrugh H. Assessment of resolution and intercenter reproducibility of results of genotyping *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis of SmaI macrorestriction fragments: A multicenter study. *J. Clin. Microbiol* 1998. 36, 1653-59.
- Van Cleef BA**, Verkade EJ, Wulf MW, Buiting AG, Voss A, Huijsdens XW, Van Pelt W, Mulders MN, Kluytmans JA. Prevalence of livestock-associated MRSA in communities with high pig-densities in the Netherlands. *PLoS One* 2010. 5, e9385.
- Van Cleef BA**, Broens EM, Voss A, Huijsdens XW, Züchner L, Van Benthem BH, Kluytmans JA, Mulders MN, Van De Giessen AW,. High prevalence of nasal MRSA carriage in slaughterhouse workers in contact with live pigs in The Netherlands. *Epidemiol Infect* 2010. 138, 756-63.
- Van Cleef BA**, Monnet DL, Voss A, Krziwanek K, Allerberger F, Struelens M, Zemlickova H, Skov RL, Vuopio-Varkila J, Cuny C, Friedrich, A.W., Spiliopoulou I, Pászti J, Hardardottir H, Rossney A, Pan A, Pantosti A, Borg M, Grundmann H, Mueller-Premru M, Olsson-Liljequist B, Widmer A, Harbarth S, Schweiger A, Unal S, Kluytmans JA. Livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans, Europe. *Emerg Infect Dis* 2011. 17, 502-5.
- Van Cleef BA**, Van Benthem BH, Verkade EJ, Van Rijen M, Kluytmans-van Den Bergh MF, Schouls LM, Duim B, Wagenaar JA, Graveland H, Bos ME, Heederik D, Kluytmans JA. Dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* carriage in pig farmers: a prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect* 2014. 20, 0764-71.
- Van Den Broek IV**, Van Cleef BA, Haenen A, Broens EM, Van Der Wolf PJ, Van Den Broek MJ, Huijsdens XW, Kluytmans JA, Van De Giessen AW, Tiemersma EW. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. *Epidemiol Infect* 2009. 137, 700-8.
- Van Den Eede A**, Martens A, Lipinska U, Struelens M, Deplano A, Denis O, Haesebrouck F, Gasthuys F, Hermans K. High occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in equine nasal samples. *Vet Microbiol* 2009. 133, 138-44.

- Van Loo I**, Huijsdens X, Tiemersma E, De Neeling A, Van De Sande-Bruinsma N, Beaujean D, Voss A, Kluytmans J. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of animal origin in humans. *Emerg Infect Dis* 2007. 13, 1834-9.
- Van Rijen MM**, Kluytmans-van Den Bergh MF, Verkade EJ, Ten Ham PB, Feingold BJ, Kluytmans JA, CAM Study Group,. Lifestyle-Associated Risk Factors for Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Carriage in the Netherlands: An Exploratory Hospital-Based Case-Control Study. *PLoS One* 2013 8, e65594.
- Van Rijen MM**, Van Keulen PH, Kluytmans JA,. Increase in a Dutch hospital of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* related to animal farming. *Clin Infect Dis* 2008. 46, 261-63.
- Vandenesch F**, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy ME, Etienne J. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying panton-valentine leukocidin genes: Worldwide emergence. *Emerg Infect Dis* 2003. 9, 978-84.
- Vazquez BG**, Alikhan A, Weaver AL, Wetter DA, Davis MD. Incidence of hidradenitis suppurativa and associated factors: a population-based study of Olmsted County, Minnesota. *J Invest Dermatol* 2013. 133, 97-103.
- Verkade EJ**, Bosch T, Hendriks Y, Kluytmans J. Outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in a Dutch nursing home. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2012. 33, 624-6.
- Verkade EJ**, Van Benthem B, Den Bergh MK, Van Cleef BA, Van Rijen M, Bosch T, Kluytmans J. Dynamics and determinants of *Staphylococcus aureus* carriage in livestock veterinarians: a prospective cohort study. *Clin. Infect. Dis* 2013. 57, e11-7.
- Voss A**, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect Dis* 2005. 11, 1965-6.
- 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.
- Welinder-Olsson C**, Florén-Johansson K, Larsson L, Öberg S, Karlsson L, Åhrén C. Infection with Pantone-Valentine leukocidin-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* t034. *Emerg. Infect. Dis* 2008. 14, 1271-72.
- Williams RE**. Healthy carriage of *Staphylococcus aureus*: its prevalence and importance. *Bacteriol Rev* 1963. 27, 56-71.
- World Health Organization**. Global guidelines for the prevention of surgical site infection. *J Hosp Infect* 2016. 95, 135-6.
- Worthing KA**, Coombs GW, Pang S, Abraham S, Saputra S, Trott DJ, Jordan D, Wong HS, Abraham RJ, Norris JM. Isolation of *mecC* MRSA in Australia. *J Antimicrob Chemother* 2016. 71, 2348-49.
- Wulf MW**, Markestein A, Van Der Linden FT, Voss A, Klaassen C, Verduin CM. First outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in a Dutch hospital, June 2007. *Euro Surveill* 2008. 13 (9): pii=8051.
- Zaveri K**, Patnala K. Prediction of Promiscuous Epitope Studies Of *spa* Antigen In *Staphylococcus aureus*: An Insight On Peptide-Based Vaccines *Int J Pharm Pharm Sci* 2016. 8 (7), 386-391.
- Zhang HZ**, Hackbarth CJ, Chansky KM, Chambers HF. A Proteolytic Transmembrane Signaling Pathway and Resistance to β -Lactams in *Staphylococci*. *Science* 2001. 291, 1962-65.

Zhang J, Gu FF, Zhao SY, Xiao SZ, Wang YC, Guo XK, Ni YX, Han LZ. Prevalence and molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* among residents of seven nursing homes in Shanghai. PLoS One 2015. 10:e. 0137593

Zimlichman E, Henderson D, Tamir O, Franz C, Song P, Yamin CK, Keohane C, Denham CR, Bates DW. Health care-associated infections: A meta-analysis of costs and financial impact on the US health care system. JAMA Intern Med 2013 173, 2039-46.

ANEXOS

Congresos presentados

- G. Sierra, L. Redondo, L. Gaviria, **E. Reynaga**, M. Navarro, A. Vilamala, G. Lucchetti. Prevalencia de la colonización por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en trabajadores de granjas de cerdos y en una población porcina. Comunicación oral presentada a la SEMI 2013. Premiado como la mejor comunicación oral.
- Loste C, **Reynaga E**, Lucchetti G, Sabrià M. Prevalence of methicilin resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in hospitalized patients or Health care users, in an area of high pig density in Barcelona, Spain. ICCAC 2014.
- **E. Reynaga**, C. Torres, M. Garcia, M. Navarro, A. Vilamala, M. Sabrià. Clinical impact and prevalence of MRSA CC398 in an area of Spain with high density of pig farming. 27th ECCMID, the European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Vienna, Austria, 22 – 25 April, 2017.

Premios relacionados con la tesis

- **Beca FORES (2012)**. Segundo premio, al proyecto de investigación Prevalencia de SARM CC398 en una población humana y porcina.
- **Premio a la mejor comunicación oral** en el congreso de la SEMI de 2013.
- **Premio al mejor trabajo original** por l'Acadèmia de Ciències Mèdiques de Barcelona delegació Osona en 2013.
- **Premio al mejor trabajo original** por l'Acadèmia de Ciències Mèdiques de Barcelona delegació Osona en 2014.

Publicaciones que configuran el cuerpo de la Tesis

1) Reynaga E, Navarro M, Vilamala A, Roure P, Quintana M, Garcia-Nuñez M, Figueras R, Torres C, Lucchetti G, Sabrià M. Prevalence of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in pigs and pig farm workers in an area of Catalonia, Spain. BMC Infect Dis. 2016 Nov 28;16(1):716. FI: 2.69

2) Reynaga E, Torres C, Garcia-Nuñez M, Navarro M, Vilamala A, Puigoriol E, Lucchetti GE, Sabrià M. Clinical Impact and Prevalence of MRSA CC398 and differences between MRSA-Tet^R and MRSA-Tet^S in an area of Spain with a high density of pig farming: a prospective cohort study. Clin Microbiol Infect. 2017 Mar 29. pii: S1198-743X(17)30188-X. doi:10.1016/j.cmi.2017.03.019. FI: 4.57

Otros Trabajos relacionados con la Tesis

3) Esteban Reynaga, Carmen Torres, Marian Garcia-Nuñez, Marian Navarro, Anna Vilamala, Emma Puigoriol, Gianni Enrico Lucchetti, Daniella Nunes, Adriana Silva, Miquel Sabrià. Prevalence of MRSA ST398 carriage in Nursing Home residents in an area of Spain with high density of pig farming. Under review in Infection Control Hospital Epidemiology (ICHE).

RESEARCH ARTICLE

Open Access



Prevalence of colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in pigs and pig farm workers in an area of Catalonia, Spain

Esteban Reynaga^{1,2*}, Marian Navarro³, Anna Vilamala³, Pere Roure⁴, Manuel Quintana⁵, Marian Garcia-Nuñez^{6,7}, Raül Figueras⁸, Carmen Torres⁹, Gianni Lucchetti¹ and Miquel Sabrià^{2,6,7,10}

Abstract

Background: A livestock-associated clonal lineage (ST398) of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) has been identified causing colonization or infection in farm workers. The aim of the study was to analyze the prevalence of MRSA-ST398 colonization in pigs and in pig farmers in an area with a high pig population (Osona, Barcelona province, Catalonia, Spain).

Methods: We performed a cross-sectional prevalence study in Osona (Catalonia, Spain), from June 2014 to June 2015. All pig farm workers from 83 farms were studied. Twenty of these farms were randomly selected for the study of both pigs and farmers: 9 fattening and 11 farrow-to-finish farms. All workers over the age of 18 who agreed to participate were included. Samples were analyzed to identify MRSA-ST398 and their *spa* type.

Results: Eighty-one of the 140 pig farm workers analyzed (57.9% (95% IC: 50.0–66.4%)) were MRSA-positive, all of them ST398. The mean number of years worked on farms was 17.5 ± 12.6 (range:1–50), without significant differences between positive and negative MRSA results ($p = 0.763$). Over 75% of MRSA-ST398 carriers worked on farms with more than 1250 pigs ($p < 0.001$). At least one worker tested positive for MRSA-ST398 on all 20 selected pig farms. Ninety-two (46.0% (95% IC: 39.0–53.0%)) of the nasal swabs from 200 pigs from these 20 farms were MRSA-positive, with 50.5% of sows and 41.4% of fattening pigs ($p = 0.198$) giving MRSA-positive results. All the isolates were tetracycline-resistant, and were identified as MRSA-ST398. The *spa* type identified most frequently was t011 (62%). Similar *spa* types and phenotypes of antibiotic resistance were identified in pigs and farmers of 19/20 tested farms.

Conclusions: The prevalence of MRSA-ST398 among pig farm workers and pigs on farms in the studied region is very high, and the size of the farm seems to correlate with the frequency of colonization of farmers. The similar *spa*-types and phenotypes of resistance detected in pigs and workers in most of the farms studied suggest animal-to-human transmission.

Keywords: MRSA ST398, ST398, Pig farmer, Pig, Livestock associated MRSA

* Correspondence: eareynaga@chv.cat

¹Department of Internal Medicine, Hospital Universitari de Vic, Barcelona, Spain

²Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2016 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Background

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) colonization can be acquired in the community (CA-MRSA) or in a hospital setting (HA-MRSA) [1]. Infections caused by CA-MRSA strains have been described, in some cases in individuals in direct or indirect contact with a pig farm [2]. A new genetic lineage of CA-MRSA for which pigs and other livestock act as a reservoir (LA-MRSA) has been identified. ST398 in pigs was first reported by Armand-Lefèvre et al [3], who found both methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) and MRSA in pigs and humans [4].

Studies have also confirmed that people in contact with pigs and veal calves are the most likely to be carriers of MRSA-ST398 [5, 6]. Voss et al observed that pig farming is a significant risk factor for MRSA in humans [7]. A subsequent study demonstrated transmission of MRSA-ST398 between pigs and humans [8]. Serious human infections with MRSA-ST398 as an etiologic agent have also been identified in Europe, Asia, Oceania and America [9–15].

In Catalonia (Spain), no data of any kind are available on the prevalence of MRSA-ST398 in the exposed population. Osona, an area of Barcelona province (Catalonia, northeast Spain), is a county with a high density of pig fattening farms and high employment in the sector. According to the latest data, in 2014 there were 674 pig farms in Osona, of which 416 were fattening farms. These data confirm that the county's capacity to house pigs is very high; in 2014, the density was 904 pigs/km². The swine population, including breeding sows older than 6 months and fattening pigs, was 1.126.446 pigs [16].

The objective of this study was to analyze the prevalence of nasal colonization by MRSA-ST398 in pig farm workers in an area with a high pig population, as well as the prevalence of MRSA-ST398 in pigs and workers from selected farrow-to-finish and fattening farms.

Methods

We conducted a cross-sectional prevalence study in the county of Osona (Barcelona province, Catalonia, Northeast Spain) from June 2014 to June 2015.

Selection of farms, workers, and pigs

The study was presented to Osona County farm owners through their business association (Technical Association of Swine Health), assuring them that data confidentiality would be protected. The research was approved by the ethics committee on animal care and use of the Osona regional office of the Agriculture, Livestock, Fisheries, Food and Natural Environment Department of the Catalan government, in accordance with European legislation on animal care, specifically the guidelines related to pig farms [17]. The project was also approved

by the research ethics committee of our institution, the Hospital Universitari de Vic.

Participating Workers

We studied all the pig farm workers from a total of 83 farms. All workers over the age of 18 who were present at the time of the visit were invited to participate in the study, and all participants signed informed consent forms. We collected epidemiological data on the study participants (age, sex, nationality, years worked on farms) and their medical history (previous hospitalizations and other contact with the health care system).

Pigs and Farms

Out of the 83 farms where colonization in pig farmers was studied, 20 of them were selected for pig analysis for MRSA-ST398 colonization, 9 of them fattening (1–6 months) and 11 farrow-to-finish (6 months to 6 years). Twenty farms were selected taking into account the size of the pig population in different county areas. From an area with more than 100,000 pigs, 4 farms were selected, from the areas with between 50,000 and 99,999 pigs, 5 were, in the areas with between 10,000 and 49,999 pigs, 9 were, and in the area with between 1000 and 9999 pigs, 2 farms were. All 20 farms had between 180 and 10,000 pigs. Farms were selected by a simple randomization. Ten pigs per farm were analyzed and one smear was carried out on each pig. At each farm, samples were taken from one or two pigs in each pen, until the proportional number of samples had been collected.

Collection and processing of samples

A nasal swab was collected from both nostrils of each of the selected pigs and from both nostrils of each participating farm worker. The veterinarian used a hook to take hold of the pig's snout, immobilized the animal, and collected the sample. After collecting the sample, the hook was removed to release the animal.

All sampling was done with cotton-tipped swabs that were placed in Stuart swab PS+ Viscose (Deltalab, Rubí, Spain). Swabs were stored at 4 °C and transported directly to the laboratory in the Microbiology Department of Hospital Universitari de Vic (Barcelona) for testing.

MRSA isolation and characterization

The samples were cultured onto a chromogenic MRSA-Brilliance agar (Oxoid, PO5196A, UK), and the results were read after 48 h. Suspected colonies (green) were plated onto blood agar (Oxoid, CM0055, UK), and organism identification was performed using an automated system (bioMérieux Vitek 2). For the confirmation of MRSA isolates, susceptibility for oxacillin and ceftioxin was determined by a disk diffusion test [18], and the presence of the PBP2a protein was analyzed by a latex

agglutination test with specific anti-PBP2 monoclonal antibodies (Slidex® MRSA detection- Biomerieux). MRSA strains showed resistance to oxacillin and ceftioxin and were positive for PBP2a protein in the agglutination test.

Antibiotics susceptibility testing

Susceptibility testing was carried out by the disk-diffusion method following the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recommendations [18]. The antibiotics tested were as follows: penicillin (10 units), oxacillin (1 µg), erythromycin (15 µg), clindamycin (2 µg), gentamicin (10 µg), rifampicin (5 µg), tetracycline (30 µg), tobramycin (10 µg) trimethoprim sulfamethoxazole (1.25/23.75 µg), ciprofloxacin (5 µg), linezolid (30 µg), and mupirocin (200 µg). Vancomycin and daptomycin susceptibility was studied by broth microdilution. CLSI breakpoints were used for antibiotic susceptibility categorization [18].

Isolates were maintained at -80 °C for other determinations.

Molecular Typing

Multilocus sequence typing (MLST)

All the isolates were analyzed by multilocus sequence typing (MLST), in accordance with the guidelines of the MLST database (<http://saureus.mlst.net/>).

spa typing All MRSA strains were characterized by *spa* typing, performed as previously described [19] using the Ridom StaphType software, version 1.4 (Ridom GmbH Münster, Germany). The *spa* types were assigned according to the Ridom web server (<http://www.spaserver.ridom.de/>).

Statistical analysis of the data

Statistical analysis was performed using SPSS 21.0 software.

Categorical variables were expressed as frequency (%) and continuous variables as mean ± standard deviation (SD). Variables not normally distributed (verified by QQ Plot and Kolmogorov-Smirnov) were expressed as median (interquartile range).

The prevalence of positive results in MRSA was estimated with a 95% confidence interval (CI). Statistical significance for intergroup differences was assessed by Pearson's chi-square or Fisher's exact test for categorical variables and the Student's *t* test or Mann-Whitney *U* test for continuous variables, depending on the distribution of the variable. A receiver characteristic operator curve (ROC) was configured in order to calculate a cut-off point with best sensitivity and specificity for the number of pigs on each farm to be associated with the positive results of the pig farm worker. A *p*-value lower than 0.05 was considered statistically significant.

Results

Prevalence in pig farm workers and epidemiological characteristics

One hundred and forty workers from 83 pig farms were studied, with 57.9% (95% CI: 50.0–66.4%) testing positive (81/140) for MRSA, all of them typed as MRSA-ST398. The mean age of the pig farmers was 44.9 ± 13.8 (range:19–80), and most of them were men (94.3%). Only one of the farmers was an immigrant (from Gambia); none had been hospitalized or had taken antibiotics in the last year before the study. With nine exceptions, the participants had no history of disease. The mean number of years worked on farms was 17.5 ± 12.6 (range: 1–50), without significant differences between MRSA-negative and MRSA-positive subjects (17.1 ± 12.5 vs. 17.8 ± 12.7, *p* = 0.763) (Table 1). There was a higher number of pigs in farms where workers tested positive for MRSA-ST398 (1500 [1050–4300] vs. 1000 [300–1300], *p* < 0.001) (Fig. 1). A cut-off point of 1250 pigs per farm was found to be the best discriminator between farms with workers testing positive and negative results in MRSA-ST398. Thus, the percentage of pig farmers working on farms with more than 1250 pigs who tested positive for MRSA ST398 was significantly higher than those working on farms with less than 1250 pigs (75.8 vs. 41.9%, *p* < 0.001).

Eight different *spa* types were detected among the 81 MRSA-ST398 isolates obtained from pig farm workers (one/positive farmer): t011 (68%), t108 (6%), t034 (6%), t1451 (7%), t1197 (5%), t1456 (4%), t2346 (3%) and t943 (1%). Table 2 shows the correlation of the phenotypes of antibiotic resistance with *spa* types in isolates of pig farmers who were MRSA-ST398 positive, and also the number of farms in which each *spa*-type was detected.

Prevalence in pigs and correlation with isolates of farmers

Twenty of the 83 pig farms were selected for the analysis of MRSA-ST398 colonization in pigs and to determine the correlation with the results in the corresponding farmers. For this purpose, nasal swabs from 200 pigs of these 20 farms were collected (101 fattening pigs and 99 sows in service units) and analyzed. Ninety-two of the animals (46% (IC 95%: 39–53%)) were MRSA-positive, all of them of the genetic lineage ST398 (41.4% in fattening pigs and 50.5% in sows, *p* = 0.198). The percentage of positive results in fattening farms was similar to the percentage of positive results in farrow-to-finish farms (43.3 vs. 48.2%, *p* = 0.494). The median of pigs per farm was 1.525 (interquartile range: 1.125–4.500) with a minimum of 180 and a maximum of 10.000 pigs. Of the 20 pig farms selected for the analysis of both farmers and pigs, workers colonized with MRSA-ST398 were identified in all of them.

The MRSA-ST398 strains recovered from pigs presented 7 different *spa* types: t011 (71%), t034 (8%), t2346

Table 1 Epidemiological characteristics of pig farm workers included in the study

	All	MRSA ST398		Statistical test and <i>p</i> value*
		Positive	Negative	
Pig farm workers [n, (%)]	140	81 (57.9)	59 (42.1)	na
Age in years [mean, (SD)]	44.9 (13.8)	44.4 (13.2)	45.5 (14.7)	<i>p</i> = 0.631**
Men [n, (%)]	132 (94.3)	75(92.6)	57 (96.6)	<i>p</i> = 0.467***
Years of work [mean, (SD)]	17.5(12.6)	17.8 (12.7)	17.1(12.5)	<i>p</i> = 0.763**
Medical History[n, (%)]	9 (6)	5 (6.2)	4 (6.8)	<i>p</i> = 1.000***
Antibiotics treatment last year %	0	0	0	na
Hospital admission last year %	0	0	0	na
N pigs	1200 (700–3000)	1500 (1050–4300)	1000 (300–1300)	<i>p</i> < 0.001****
Fattening farm workers	69 (49.3)	38 (46.9)	31(52.5)	<i>p</i> = 0.511*****
farrow-to-finish farm workers	71(51.7)	43(53.1)	28(47.5)	

na not applicable

*Level of significance is set at *p* < 0.05

**Student *t*

***Fisher's exact test

****Mann-Whitney U

*****Pearson's chi-square

(2%), t108 (11%), t1197 (1%), t1456 (6%), and t1451 (1%). Table 3 shows the results of the MRSA-ST398 isolates of pigs and farmers from the 20 farms, including the distribution of *spa*-types and the phenotypes of antibiotic resistance. In most of the farms (19/20), it was possible to detect MRSA-ST398 with a similar *spa*-type and phenotype of antibiotic resistance in pigs and farmers (Table 3). Most of the MRSA-ST398 strains presented a multi-resistant phenotype (resistance to at least three different families of antibiotics), including in all cases tetracycline resistance. All MRSA isolates showed

resistance for tetracycline and susceptibility for vancomycin, daptomycin, linezolid, mupirocin and rifampicin.

Discussion

The prevalence of LA-MRSA of the ST398 lineage in pig farm workers in Osona region (Catalonia, Spain) is 58%, considerably higher than the 9% reported in the only previous study of MRSA in livestock farmers in Spain [20], and also much higher than the prevalence of MRSA in the general healthy human population in Spain (<0.5%)

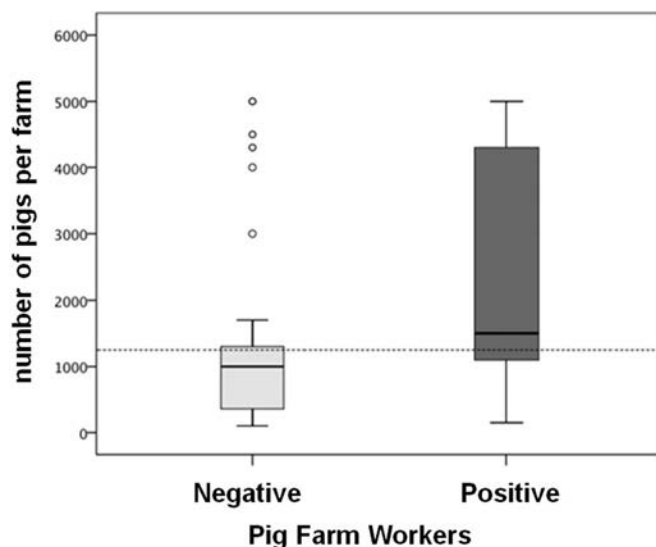


Fig. 1 Relationship between MRSA ST398 positive pig farm workers and the number of pigs per farm

Table 2 Characteristics of the 81 MRSA^a ST398 isolates detected in the 140 pig farmers (PF) from the 83 farms tested

<i>spa</i> types of isolates	Number of isolates	Number of positive farms/ number of positive PFs	% of resistance for non-beta-lactam antibiotics ^b						
			TET	ERY	CLI	CIP	GEN	TOB	SXT
t011	55	13/55	100	90.9	100	34.5	27.2	18.1	25.4
t1456	3	3/3	100	100	100	100	0	0	0
t1451	6	6/6	100	100	100	100	0	33.3	16.6
t108	5	4/5	100	100	100	60	0	20	60
t943	1	1/1	100	100	100	100	0	0	0
t1197	4	3/4	100	75	100	100	25	25	75
t034	5	4/5	100	80	100	60	0	60	40
t2346	2	2/2	100	100	100	0	0	0	0

^aAll MRSA isolates showed susceptibility to vancomycin, daptomycin, linezolid, mupirocin and rifampicin

^bAntimicrobials: TET, tetracycline; ERY, erythromycin; CLI, clindamycin; GEN, gentamicin; CIP, ciprofloxacin; SXT, trimethoprim-sulfamethoxazole; TOB: tobramycin

[21]. This is the first study of LA-MRSA prevalence in pig farm workers conducted in Catalonia.

In the previous study referred to performed in Spain (Canary Islands), a relatively low prevalence of MRSA (9%) was detected in nasal samples of pig workers (including farmers and workers of slaughterhouses), although higher frequency was found when only pig farm workers were considered (15%) [20]. In our study at least in part, the workers studied were exclusively from pig farms, which could explain the higher prevalence of MRSA-ST398 (58%); other factor could be the higher density of pigs in Osona region compared with Canary Islands (data not shown). Other European studies found a lower prevalence of LA-MRSA in pig farmers. A study in Switzerland were not detected pig farmers with LA-MRSA [22], in another study in a region of Germany the prevalence was 25% [23]. Our findings are close to those of a study in the Netherlands, where 63% of pig farmers were colonized with the ST398 strain [24].

Carrier *status* of LA-MRSA in humans may be related to direct contact with pigs [8] or to human-human transmission [25], and the colonization may be intermittent or persistent [24, 26–29]. Therefore, it seems that the risk factors for persistent MRSA-ST398 carrier *status* depend on the intensity of animal contact [26], together with an age range of 40–49 years, a 40-h working week, and assisting sows with birthing [24]. To a lesser, but still significant extent, lack of hand-washing when leaving the barns was associated with persistent MRSA-positive nasal swabs [24]. Our study shows that the size of the farm could be an important factor for MRSA-ST398 colonization; thus, working on farms with more than 1250 pigs seems to be associated with a higher risk for nasal MRSA-ST398 colonization of farmers; nevertheless, no difference was observed between carriers and non-carriers of MRSA when the number of years worked on the farm was evaluated.

Moreover, in all the farms where both the farmer and the pigs were studied, the results for MRSA-ST398 were

positive and the *spa*-type and the resistance phenotype was similar. This finding suggests that humans and animals have interrelated strains. It is known that LA-MRSA ST398 originated as MSSA in humans and exemplifies a bidirectional zoonotic exchange, underscoring the potential public health risks [30].

The prevalence of MRSA found in pigs (46%) was similar in comparison to other European studies. For example, in Belgium, an estimated 44% were carriers [31]; in Germany, a prevalence of 52% was reported for fattening farms [32], and there was 56% prevalence in pig holding companies in the Netherlands [33]. Moreover, in La Rioja (Northern Spain), Gómez-Sanz described a prevalence of 21 and 49% in fattening and suckling pigs, respectively, in this case at the slaughterhouse level [34]. Another study showed that 28% of Iberian pigs were colonized; these animals have little contact with pig farmers [35]. Furthermore, in our study we observed that pig farmers working in farms with pig populations are carriers of MRSA ST398. This finding may suggest that farms with more pigs could be more likely to have MRSA-ST398-positive pig farmers. A recent German study showed that the number of pigs per farm was directly related to the probability of LA-MRSA colonization [36]. Similarly, in The Netherlands, a lower quantity of antibiotics is used on smaller farms, which could help to explain this lower prevalence of LA-MRSA on small farms [37].

The animals studied were sows and fattening pigs, with a slightly higher, although not statistically significant prevalence found in sows. This may be because fattening pigs live for only 6 months, at which point they are sent to the slaughterhouse. As a result, there may not be enough time for these animals to be colonized. Sows, by contrast, live on farms for an average of 5 years. This trend toward a linear relationship between increased colonization by LA-MRSA and a longer lifespan was previously described by Broens et al [38].

All the MRSA identified were of the same genetic lineage (ST398), and the most frequent *spa*-type found

Table 3 Frequency of detection of MRSA ST398 isolates in pig farmers and pigs in the 20 tested farms and genetic lineages (MLST and *spa*-type) and antimicrobial resistance phenotypes of recovered isolates

Farm/number of pigs	Pig Farmers			Pigs			Antimicrobial resistance Phenotype of resistance for non-beta-lactams ^a
	Positive/total	MLST	<i>spa</i> type	Positive/total	MLST	<i>spa</i> type	
(*)Farm 1/4500	3/3	ST 398	t011	3/10	ST 398	t011	TET,GEN,TOB,CLI,ERY,SXT
				1/10	ST 398	t011	TET,GEN,TOB,CLI,ERY
(*)Farm 2/1200	1/4	ST 398	t011	1/10	ST 398	t011	TET, TOB, CLI, ERY,CIP,SXT
	1/4	ST 398	t011	3/10	ST 398	t011	TET, CIP, SXT
(**)Farm 3/180	1/1	ST 398	t034	5/10	ST 398	t034	TET, TOB, CLI, CIP
(*)Farm 4/800	2/2	ST 398	t011	4/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY
(*)Farm 5/1500	1/1	ST 398	t011	4/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,SXT
(**)Farm 6/2000	1/1	ST 398	t011	4/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP
(*)Farm 7/1700	3/8	ST 398	t011	1/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP
	1/8	ST 398	t011	1/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,GEN,TOB,SXT
	2/8	ST 398	t034	2/10	ST 398	t034	TET,CLI,ERY,CIP,TOB,SXT
	1/8	ST 398	t1451				TET,CLI,ERY,CIP,TOB,SXT
(*)Farm 8/1300	1/2	ST 398	t2346	2/10	ST 398	t2346	TET,CLI,ERY
	1/2	ST 398	t108	2/10	ST 398	t108	TET,CLI,ERY,TOB,SXT
(*)Farm 9/340	1/1	ST 398	t011	7/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY
(**)Farm 10/5000	1/3	ST 398	t011	3/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP,TOB, SXT
	1/3	ST 398	t1197	1/10	ST 398	t1197	TET,CLI,ERY,CIP,SXT
(*)Farm 11/2700	1/1	ST 398	t011	4/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY
(**)Farm 12/1550	1/1	ST 398	t011	5/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP,TOB,SXT
(*)Farm 13/5000	1/1	ST 398	t1197	1/10	ST 398	t1197	TET,CLI,CIP,TOB,
				3/10	ST 398	t1456	TET,CLI,ERY
(**)Farm 14/5000	1/1	ST 398	t1451	1/10	ST 398	t1451	TET,CLI,ERY,CIP,TOB
				2/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP
				1/10	ST 398	t1456	TET,CLI,ERY
(**)Farm 15/600	1/1	ST 398	t011	4/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP,SXT
(**)Farm 16/1200	1/1	ST 398	t108				TET,CLI,ERY,CIP
				4/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP,TOB
(*)Farm 17/10000	2/5	ST 398	t011				TET,CLI,ERY,CIP,SXT
	1/5	ST 398	t1451				TET,CLI,ERY,CIP,
	2/5	ST 398	t108	8/10	ST 398	t108	TET,CLI,ERY,TOB,SXT
(**)Farm 18/1300	2/4	ST 398	t011	2/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP
	1/4	ST 398	t011	1/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY
	1/4	ST 398	t011	2/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP,SXT
(**)Farm 19/1500	1/4	ST 398	t011	1/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP
	1/4	ST 398	t011	2/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,CIP,GEN,TOB,SXT
	1/4	ST 398	t1451	1/10	ST 398	t1451	TET,CLI,ERY,CIP
(*)Farm 20/4500	2/4	ST 398	t011	5/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,GEN,TOB,SXT
	1/4	ST 398	t011	1/10	ST 398	t011	TET,CLI,ERY,GEN,TOB
Total	43/49			92/200			

(*) farrow-to-finish; (**) fattening

^aAntimicrobials: TET, tetracycline; ERY, erythromycin; CLI, clindamycin; GEN, gentamicin; CIP, ciprofloxacin; SXT, trimethoprim-sulfamethoxazole; TOB: tobramycin

in the workers was t011, followed by t108, t1451, t1197, and t1456; in pigs, the most frequent ones were t011, t108 and t1456. This finding agrees with other European studies in Spain, Belgium, Germany and The Netherlands [32, 39–41].

In terms of phenotypes of antibiotic resistance, all our MRSA-ST398 isolates showed tetracycline resistance. Previous studies have demonstrated that tetracycline-resistance is a good phenotypic marker of MRSA of the lineage ST398 [41, 42] and it is known that the *tet(M)* gene, encoding tetracycline resistance, is integrated into the *SCCmec* element in MRSA ST398 strains. The MRSA strains of this study showed high rates of resistance to erythromycin, and even higher for clindamycin. In ten of the pig farmers tested, MRSA isolates with dissociated clindamycin-erythromycin resistance were detected (clindamycin-resistance/erythromycin-susceptibility), probably due to unusual clindamycin resistance genes (as *InuA* or *vgaA*), enriched in isolates of this genetic lineage [43, 44]. Most of the MRSA isolates obtained from farmers and pigs in this study showed a wide phenotype of antibiotic resistance, characteristic of this MRSA genetic lineage [45].

One limitation of the study is that other groups of pigs from the farms were not included. To minimize this effect the majority of groups of pigs (fattening pigs and sows in service units) from each farm have been included in the study. We are currently exploring the possibility of conducting a multicenter study in multiple areas of Spain with a high density of pigs. Additionally, there may be a bias in the study related to the age when the nasal swabs were carried out on the pigs: when the samples were taken, the age of the animals was not a selection criterion. On the other hand, all participating farms used the same veterinarian and the same company to monitor sanitation. Therefore, our findings about antibiotic control cannot necessarily be generalized to other farms.

Conclusions

We describe for the first time MRSA-ST398 prevalence in Catalonia, the region of Spain with the highest density of pigs. The observed prevalence of LA-MRSA in pig farm workers in the county of Osona (Catalonia, Spain) was high. Pig farmers working on farms with more than 1250 pigs are more likely to be LA-MRSA positive. The prevalence of the MRSA found in pigs (46%) was similar in comparison to other European countries. On farms where workers and pigs were studied both were positive.

Abbreviations

CA-MRSA: Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; CI: Confidence interval; HA-MRSA: Hospital acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; LA-MRSA: Livestock acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MLST: Multilocus sequence typing; MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; MSSA: Methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*; PF: Pig farmer; PFs: Pig farmers; SD: Standard deviation

Acknowledgments

We are grateful to all workers on pig farms and veterinarians who participated in the study. We should also like to thank the Genomics Unit of the Germans Trias i Pujol Institute for the sequencing service. CIBER de Enfermedades Respiratorias is an initiative of Spain's health research institute, Instituto de Salud Carlos III.

Funding

This research was supported by a 2011 foundation grant (04/2011) from the Unnim bank group, through Fundació Caixa Manlleu—Fundació d'Osona per a la Recerca i l'Educació Sanitàries (FORES: in English, Osona Foundation for Health Research and Education; <http://www.foresosona.org/>), Call V: Health Sciences.

Availability of data and materials

The dataset supporting the conclusions of this article is available from the corresponding author upon request.

Authors' contributions

ER, MN, AV, GL and MS contributed to the design of the study. PR and MQ analysed the data. ER, MGN and RF coordinated and performed the studies. ER and CT drafted the manuscript. All authors read, revised and approved the final manuscript.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Consent for publication

Not applicable* in this section.

Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the Ethics Committee of Hospital Universitari de Vic (No EO 89). All Participants provided informed consent.

Author details

¹Department of Internal Medicine, Hospital Universitari de Vic, Barcelona, Spain. ²Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain. ³Microbiology Department, Hospital Universitari de Vic, Barcelona, Spain. ⁴Epidemiology Department, Hospital Universitari de Vic, Barcelona, Spain. ⁵Epidemiology Department Hospital Vall d'Hebron, Barcelona, Spain. ⁶Infectious Diseases Unit, Health Sciences Research Institute of the Germans Trias i Pujol Foundation, Badalona, Barcelona, Spain. ⁷CIBER de Enfermedades Respiratorias, Madrid, Spain. ⁸Veterinary, Associació Tecnico-sanitària del Porcí (ASSAPORC), Vic, Barcelona, Spain. ⁹Àrea de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de La Rioja, Logroño, Spain. ¹⁰Infectious Diseases Department, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona, Spain.

Received: 29 April 2016 Accepted: 21 November 2016

Published online: 28 November 2016

References

1. Que M. *Staphylococcus aureus*. In: Mandell GL, Bennett JE DR, editors. Principles and practice of infectious diseases. Churchill Philadelphia: Livingstone, Elsevier; 2010. p. 2543–78.
2. Pan A, Battisti A, Zoncada A, Bernieri F, Boldini M, et al. Community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 infection, Italy. *Emerg Infect Dis*. 2009;15:845–7.
3. Armand-Lefevre L, Ruimy R, Andreumont A. Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:711–4.
4. De Neeling AJ, van den Broek MJM, Spalburg EC, van Santen-Verheul MG, Dam-Deisz WDC, Boshuizen HC, et al. High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Vet Microbiol*. 2007;122:366–72.
5. Huijsdens XW, Bosch T, van Santen-Verheul MG, Spalburg E, Pluister GN, van Luit M, et al. Molecular characterisation of PFGE non-typable methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in The Netherlands, 2007. *Euro Surveill*. 2009; 14:19335.
6. Huijsdens XW, van Dijke BJ, Spalburg E, van Santen-Verheul MG, Heck MEOC, Pluister GN, et al. Community-acquired MRSA and pig-farming. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2006;5:26.

7. Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect Dis*. 2005;11:1965-6.
8. van Loo I, Huijsdens X, Tiemersma E, de Neeling A, van de Sande-Bruinsma N, Beaujean D, et al. Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of animal origin in humans. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:1834-9.
9. Garcia-Graells C, Antoine J, Larsen J, Catry B, Skov R, Denis O. Livestock veterinarians at high risk of acquiring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398. *Epidemiol Infect*. 2012;140:383-9.
10. Groves MD, O'Sullivan MVN, Brouwers HJM, Chapman TA, Abraham S, Trott DJ, et al. *Staphylococcus aureus* ST398 detected in pigs in Australia. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:1426-8.
11. Horgan M, Abbott Y, Lawlor PG, Rossney A, Coffey A, Fitzgerald GF, et al. A study of the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and in personnel involved in the pig industry in Ireland. *Vet J*. 2011;190:255-9.
12. Lozano C, Aspiroz C, Ezpeleta AI, Gómez-Sanz E, Zarazaga M, Torres C. Empyema caused by MRSA ST398 with atypical resistance profile, Spain. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:138-40.
13. Smith TC, Male MJ, Harper AL, Kroeger JS, Tinkler GP, Moritz ED, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain ST398 is present in midwestern U.S. swine and swine workers. *PLoS One*. 2009;4:e4258.
14. 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.
15. Yan X, Yu X, Tao X, Zhang J, Zhang B, Dong R, et al. *Staphylococcus aureus* ST398 from slaughter pigs in northeast China. *Int J Med Microbiol*. 2014;304:379-83.
16. Idescat (Institut D'Estadística de Catalunya): Anuari estadístic de Catalunya. Agricultura, ramaderia i pesca. Ramaderia. Explotacions ramaderes. Per espècies. Comarques, àmbits i províncies. Explotacions. Catalunya: Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi natural. <http://www.idescat.cat/pub/aec/454> (2014). Accessed 15 Nov 2015.
17. Official Journal of the European Union: Directiva 2008/120/CE del consejo de 18 de diciembre de 2008 relativa a las normas mínimas para la protección de cerdos. <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:047:0005:0013:ES:PDF> (2009). Accessed 15 Jan 2016.
18. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne: Clinical and laboratory standards institute; 2014.
19. Shospin B, Gomez M, Montgomery SO, Smith DH, Waddington M, Dodge DE, et al. Evaluation of protein a gene polymorphic region DNA sequencing for typing of *staphylococcus aureus* strains. *J Clin Microbiol*. 1999;37:3556-63.
20. 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;9:207-10.
21. Lozano C, Gómez-Sanz E, Benito D, Aspiroz C, Zarazaga M, Torres C. *Staphylococcus aureus* nasal carriage, virulence traits, antibiotic resistance mechanisms, and genetic lineages in healthy humans in Spain, with detection of CC398 and CC97 strains. *Int J Med Microbiol*. 2011;301:500-5.
22. Huber H, Koller S, Giezendanner N, Stephan R, Zweifel C. Prevalence and characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in humans in contact with farm animals, in livestock, and in food of animal origin, Switzerland, 2009. *Euro Surveill*. 2010;15:16.
23. Dahms C, Hübner N-O, Cuny C, Kramer A. Occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in farm workers and the livestock environment in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. *Acta Vet Scand*. 2014;56:53.
24. 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;20:O764-71.
25. McCarthy AJ, van Wamel W, Vandendriessche S, Larsen J, Denis O, Garcia-Graells C, et al. *Staphylococcus aureus* CC398 clade associated with human-to-human transmission. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78:8845-8.
26. Graveland H, Wagenaar JA, Bergs K, Heesterbeek H, Heederik D. Persistence of livestock associated MRSA CC398 in humans is dependent on intensity of animal contact. *PLoS One*. 2011;6:e16830.
27. Köck R, Loth B, Köksal M, Schulte-Wülwer J, Harlizius J, Friedrich AW. Persistence of nasal colonization with livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farmers after holidays from pig exposure. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78:4046-7.
28. van Cleef BAGL, Graveland H, Haenen APJ, van de Giessen AW, Heederik D, Wagenaar JA, et al. Persistence of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in field workers after short-term occupational exposure to pigs and veal calves. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1030-3.
29. Verkade E, van Benthem B, den Bergh MK, van Cleef B, van Rijen M, Bosch T, et al. Dynamics and determinants of *Staphylococcus aureus* carriage in livestock veterinarians: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis*. 2013;57:e11-7.
30. Price LB, Stegger M, Hasman H, Aziz M, Larsen J, Andersen PS, et al. *Staphylococcus aureus* CC398: host adaptation and emergence of methicillin resistance in livestock. *MBio*. 2012;3:e00305-11.
31. Crombé F, Willems G, Dispas M, Hallin M, Denis O, Suetens C, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among pigs in Belgium. *Microb Drug Resist*. 2012;18:125-31.
32. 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. [BioMed Central Ltd.](http://dx.doi.org/10.1186/1745-2759-7-69)
33. Broens EM, Graat EAM, van der Wolf PJ, van de Giessen AW, van Duijkeren E, Wagenaar JA, et al. MRSA CC398 in the pig production chain. *Prev Vet Med*. 2011;98:182-9.
34. Gómez-Sanz E, Torres C, Fernández-Pérez R, Aspiroz C, Ruiz-Larrea F, et al. Detection, molecular characterization, and clonal diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 and CC97 in Spanish slaughter pigs of different age groups. *Foodborne Pathog Dis*. 2010;7:1269-77.
35. Porrero MC, Wassenaar TM, Gómez-Barrero S, García M, Bárceña C, Alvarez J, et al. Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Iberian pigs. *Lett Appl Microbiol*. 2012;54:280-5.
36. Fromm S, Beißwanger E, Käsbohrer A, Tenhagen B-A. Risk factors for MRSA in fattening pig herds - A meta-analysis using pooled data. *Prev Vet Med*. 2014;117:180-8.
37. Mevius DJ, Wit B, van Pelt WBN. Usage of antibiotics in animal husbandry in the Netherlands. In: Central Veterinary Institute of Wageningen UR, editor. Monitoring of Antimicrobial Resistance and Antibiotic Usage in Animals in the Netherlands in 2009. 2009th ed. Lelystad: MARAN-2009; 2009.
38. Broens EM, Espinosa-Gongora C, Graat E A M, Vendrig N, Van Der Wolf PJ, Guardabassi L, et al. Longitudinal study on transmission of MRSA CC398 within pig herds. *BMC Vet Res*. 2012;8:58.
39. Bosch T, de Neeling AJ, Schouls LM, van der Zwaluw KW, Kluytmans JAJW, Grundmann H, et al. PFGE diversity within the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal lineage ST398. *BMC Microbiol*. 2010;10:40.
40. Brandt KM, Mellmann A, Ballhausen B, Jenke C, van der Wolf PJ, Broens EM, et al. Evaluation of multiple-locus variable number of tandem repeats analysis for typing livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS One*. 2013;8:e54425.
41. Camoez M, Sierra JM, Pujol M, Hornero A, Martín R, Domínguez MA. Prevalence and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 resistant to tetracycline at a Spanish hospital over 12 years. *PLoS One*. 2013;8:e72828.
42. Lozano C, Rezusta A, Gómez P, Gómez-Sanz E, Báez N, Martín-Saco G, et al. High prevalence of spa types associated with the clonal lineage CC398 among tetracycline-resistant *Staphylococcus aureus* strains in a Spanish hospital. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:330-4.
43. Lozano C, Aspiroz C, Rezusta A, Gómez-Sanz E, Simón E, Gómez P, Ortega C, Revillo MJ, Zarazaga M, Torres C. Identification of novel *vga(A)*-carrying plasmids and a Tn5406-like transposon in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* of human and animal origin. *Int J Antimicrob Agents*. 2012;40:306-12.
44. Lozano C, Aspiroz C, Sáenz Y, Ruiz-García M, Royo-García G, Gómez-Sanz E, Ruiz-Larrea F, Zarazaga M, Torres C. Genetic environment and location of the *Inu(A)* and *Inu(B)* genes in methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and other staphylococci of animal and human origin. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:2804-8.
45. 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.