

Detección y caracterización molecular de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) aislados de cerdo negro canario

DETECTION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF METHICILLIN-RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA) ISOLATED FROM CANARY BLACK-PIG

Abreu, R.,¹ Morcillo, A.,¹ González, J. C.,² Castro, B.,³ Pérez-Dorado, F.,² Álvarez-Marante, R.,¹ Rodríguez-Álvarez, C.,¹ y Arias, A.¹

¹Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife;
²Servicio Canario de la Salud, Santa Cruz de Tenerife, ³Hospital Universitario de Canarias, La Laguna, Santa Cruz de Tenerife.

Dirección para correspondencia: Ángeles Arias Rodríguez. Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina. Campus de Ofra, s/n. 38071. Universidad de La Laguna (Islas Canarias, España). Teléfono: +34922319369. E-mail: angarias@ull.es

RESUMEN

En los últimos años se ha descrito la cepa SARM ST398, que ha sido identificado en animales, especialmente en cerdos y cuya transmisión a los seres humanos tras exposición directa o por contaminación del medio ambiente ha sido demostrada. El objetivo del estudio ha sido determinar la prevalencia y características fenotípicas y moleculares de aislados de SARM procedentes del Cerdo Negro Canario, especie autóctona de las Islas Canarias.

La prevalencia de SARM en las muestras procedentes de Cerdo Negro Canario es elevada (62%). Todos los aislados correspondieron a la cepa ST398. Nuestros resultados indican que los cerdos negros representan un reservorio importante para la transmisión de SARM, por lo que es necesario la aplicación de medidas preventivas para tratar de impedir la colonización de SARM en los trabajadores expuestos.

Un número importante de aislados presentaron elevada multiresistencia a los antibióticos gentamicina, tobramicina, cotrimoxazol y clindamicina, por lo que es preciso un mayor control del consumo de antibióticos de los cerdos en las granjas, con la finalidad de evitar la selección y difusión de microorganismos resistentes.

Palabras Clave: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, SARM, ST398, cerdo negro canario, salud pública, multiresistencia.

SUMMARY

In the last years there has been described the strain MRSA ST398, which has been identified in animals, especially in pigs and whose transmission to the human after direct exhibition or by environment pollution has been demonstrated. The aim of the study has been to determine the prevalence and phenotypic characteristics and molecular of isolated of MRSA proceeding from the black canary pig, autochthonous species of the Canary Islands.

MRSA prevalence in the samples proceeding from black canary pig is raised (62 %). All the isolated corresponded to the strain ST398. Our results indicate that the black pigs, represents an important reservoir for MRSA transmission, for what there is necessary the application of preventive measures to try to prevent MRSA settling in the exposed workers.

An important number of isolated presented high multiresistance to the antibiotics gentamicin, tobramycin, cotrimoxazole and clindamycin, for what there is precise a major control of the consumption of antibiotics by pigs in the farms, with the purpose of avoiding the selection and diffusion of resistant microorganisms.

Key words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA, ST398, Black canary pig, Health public, multiresistance

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es un patógeno versátil que normalmente coloniza áreas como las fosas nasales de los seres humanos y animales saludables. Se asocia con una variedad de manifestaciones clínicas y es causa importante de infección nosocomial. *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), que fue inicialmente un patógeno nosocomial, en los últimos años ha surgido en la comunidad entre personas sin contacto previo hospitalario. Más recientemente, se ha descrito un clon específico, el ST398, que ha sido identificado en animales, especialmente en cerdos, y cuya transmisión a humanos, después de exposición directa o por contaminación del medio ambiente, puede representar un problema importante de salud pública (Voss et al., 2005; Wulf et al., 2008).

En Holanda, Voss et al. (2005) demostraron por primera vez la transmisión de SARM entre cerdos, granjeros y miembros de su familia, y entre una enfermera que vivía cerca de una granja porcina y un paciente en el Hospital. En todos los casos la cepa aislada fue SARM ST398.

Un reciente estudio de Schijffelen et al. (2010), analiza el genoma de una cepa de ST398, SCCmec Tipo V, aislado en un caso de endocarditis humana en un hospital holandés. Los autores indican que a pesar de que hasta ahora aislamientos de SARM ST398 no han causado enfermedad invasiva frecuentes en el ser humano, puede ser debido a la ausencia de varios factores de virulencia comunes en otras cepas de SARM. Sin embargo, la cepa ST398 presenta una alta capacidad para adquirir elementos móviles, lo que puede llevar a la rápida adquisición de los factores que contribuyen a la virulencia en las infecciones humanas.

En Canarias, existe una raza porcina autóctona denominada Cerdo Negro Canario, y aunque su origen sigue siendo controvertido, hoy en día se considera descendiente del tronco mediterráneo, lo cual le confiere a esta raza una importancia genética indudable, estando incluida desde 1997 en el Catálogo Oficial de las Razas Ganaderas de España como de protección especial.

En nuestro estudio hemos determinado la prevalencia, características fenotípicas y genotípicas de *Staphylococcus aureus* meticilina resistente en el Cerdo Negro Canario.

MATERIAL Y MÉTODOS

Todas las muestras nasales de los cerdos se recogieron en una misma granja, donde las condiciones de crianza y alimentación de los animales son mejores que en la mayoría de las instalaciones de granjas del sector porcino en la isla, ya que se trata de una especie autóctona protegida por estar en peligro de extinción. Durante el período de marzo a mayo de 2011 se tomaron muestras nasales correspondientes a

100 cerdos. En todos los casos la toma fue realizada por personal veterinario experto. Para el estudio hemos dividido los cerdos en tres grupos de edad: lactantes (de 15 días a 1 mes), destetados (3 a 5 meses) y cerdas de cría entre 1 a 4 años.

Aislamiento e identificación de la bacteria

Las muestras nasales fueron recogidas mediante una torunda con medio de conservación AmiesRayon (Deltalab[®]) e incubadas en Caldo Corazón-Cerebro al 7% de Cloruro de sodio (NaCl) durante 18-48 h a 37°C. Posteriormente, se sembraron 10 µl del caldo en un medio de cultivo cromogénico MRSA-ID (bioMérieux[®]), se incubaron en condiciones aeróbicas a 37°C durante 24-48 h, donde la identificación directa de cepas de SARM está basada en la coloración espontánea verde de las colonias productoras de α-glucosidasa en presencia del antibiótico cefoxitina. A estas colonias sospechosas de SARM se les realizó diferentes ensayos: tinción de Gram, test de catalasa, y test de coagulasa (Slidex[®]Staph Plus, bioMérieux[®]). La resistencia a la meticilina se confirmó mediante la detección de la proteína de unión a la penicilina 2 (Penicillin Binding Protein o PBP2'), mediante el test de aglutinación en látex (MRSA-screen; DenkaSeikenCoTM, Japan).

La identificación definitiva de la especie y su estudio antimicrobiano se realizó mediante el equipo automatizado VITEK[®] 2 (bioMérieux[®]). La cepa *S. aureus* ATCC 29213 se usó como cepa referencia. Todas las muestras se almacenaron a -80°C para posteriores estudios.

Estudio de la resistencia antimicrobiana

Para realizar el estudio de resistencia antimicrobiana trabajamos con cultivos puros y frescos (colonias de menos de 24 horas) cultivados en agar Columbia más sangre de cordero al 5% (Agar COS, bioMérieux) durante 24 horas a 37°C. El inóculo se preparaba a partir de 4 o 5 colonia y ajustándolo a 0.5 a 0.6 de turbidez en la escala de Mac Farland. Para el estudio de la resistencia antimicrobiana de los aislamientos obtenidos, utilizamos las tarjetas AST-P588, que son utilizadas como test para la determinación de la sensibilidad *in vitro* y son específicas para el sistema automatizado VITEK 2 (bioMérieux). El VITEK 2 permite detectar de manera rápida y automatizada la resistencia a meticilina con cefoxitina a concentración de 6 mg/L, la sensibilidad a penicilina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, quinupristina-dalfopristina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacino, levofloxacino, tetraciclina, ácido fusídico, cotrimoxazol, rifampicina, tigeciclina, fosfomicina, linezolid, vancomicina, teicoplanina y mupirocina. Los datos de resistencia se obtuvieron a través del programa informático bioLIAISON (bioMérieux).

Como cepas de referencia se utilizó *S. aureus* ATCC 29213.

Tipado molecular

Electroforesis en Gel de Campos Pulsantes (PFGE)

Los aislamientos de SARM fueron analizados por PFGE, según el protocolo empleado por Montesinos *et al.*, 2002. Este método consta de tres fases: La fase de extracción, en la que el DNA cromosómico fue embebido en bloques de agarosa

Edad	Nº de muestras	Nº de muestras positivas	% de positividad
15 días a 1 mes (lactantes)	62	37	59.7
3 a 5 meses (destetados)	22	17	77.3
1 a 4 años (cerdas de cría)	16	8	50.0
TOTAL	100	62	62.0

Tabla 1. Prevalencia de SARM en muestras nasales de cerdos negros según grupos de edad.

Antibiótico	% de resistencia
Bencilpenicilina	100,0
Oxacilina	100,0
Gentamicina	88,7
Tobramicina	88,7
Levofloxacin	0,0
Eritromicina	8,7
Clindamicina	87,1
Linezolid	0,0
Vancomicina	0,0
Teicoplanina	0,0
Tigeciclina	0,0
Fosfomicina	1,3
Nitrofurantoina	3,2
Ácido fusídico	0,0
Trimetoprima/sulfametoxazol	85,5
Rifampicina	0,0
Quinupristina/Dalfopristina	0,0
Mupirocina	0,0

Tabla 2. Resistencia de las cepas de SARM a los antibióticos estudiados.

en los que se llevara a cabo la lisis; la fase de restricción, donde se utilizó la enzima de corte Apa I; y la electroforesis, mediante la cual los fragmentos de DNA se separaron en geles de agarosa con un CHEF Mapper XA sistema (Bio-Rad Laboratories). Los geles fueron teñidos con bromuro de etidio y fotografiados bajo iluminación UV.

Cassete cromosómico estafilocócico mec (SCCmec)

La tipificación del SCCmec (staphylococcal chromosome cassette mec), se realizó por PCR multiplex, técnica que consta de tres partes: extracción del DNA, amplificación del DNA y estudio de los fragmentos de DNA amplificados, separados mediante una electroforesis.

Gen mecA

La presencia del gen *mecA* en el subtipo obtenido en PFGE, se determinó mediante PCR siguiendo el protocolo de Murakami *et al.*, 1991, empleando para ello una PCR a Tiempo Real (Multicolor Real Time iQTM, SYBR Green Supermix, BioRadTM).

Multi Locus Sequence Typing (MLST)

Los aislamientos se analizaron por MLST, técnica desarrollada por Enright y Spratt en 1998 (Enright, 1999), siguiendo el protocolo de Enright *et al.*, 2000. El perfil alélico y la Secuencia Tipo (SequenceType o ST) se asignó de acuerdo con la base de datos de MLST de *S. aureus* (<http://www.mlst.net>).

RESULTADOS

El porcentaje de muestras positivas para el total de 100 Cerdos Negros Canarios estudiados fue del 62,0%. La distribución del total de muestras positivas, según los distintos grupos de edad de los cerdos, se observa en la Tabla 1. La mayor prevalencia de SARM se encuentra en los cerdos destetados (3 a 5 meses), seguido de los lactantes y cerdas de cría entre 1 a 4 años.

En la Tabla 2 se muestra la resistencia de los aislados de SARM a los distintos antibióticos ensayados, donde además de los beta-lactámicos, podemos observar una elevada resistencia a los aminoglucósidos: gentamicina y tobramicina, a la clindamicina y al cotrimoxazol.

En la Figura 1 (PFGE), podemos ver el patrón de corte que presentan las muestras analizadas; en los carriles 1,8 y 15: se deposita marcador de peso molecular (Lambda Ladder PFGE Marker, New England Biolabs, Izasa); en los carriles 2-7 y 9-14: las muestras nasales de Cerdo Negro Canario a estudiar.

DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio indican que los cerdos negros estudiados están frecuentemente

colonizados por SARM, y concretamente por la cepa ST398. En Europa, Canadá, USA y algunos países de Asia, y debido a la gran preocupación desde el sector sanitario y veterinario, para la detección y control de este reservorio de SARM, se han publicado en los últimos años diversos estudios. En la tabla 3 se muestra la prevalencia de colonización de cerdos por SARM obtenida en los distintos estudios, el país de realización del mismo y el punto de muestreo de los animales. Se observa una gran diversidad de prevalencias que oscilan desde el 80% obtenido por Huijsdens *et al.* (2006) en cerdos de granjas de Holanda a estudios que no lo detectan, como el realizado por Horgan *et al.* (2010) en Irlanda.

Todos los aislados de nuestro estudio pertenecen a un mismo clon, el ST398, que es el que mayoritariamente se asocia al ganado y en especial a la cabaña porcina y la referida por la mayoría de los autores consultados en sus estudios (Voss *et al.* 2005; Huijsdens *et al.* 2006; de Neeling *et al.* 2007; Wulf y Voss, 2008a; Van Belkum *et al.*, 2008; Van Duijkeren *et al.* 2008; Lewis *et al.* 2008; Smith *et al.* 2009; van den Broek *et al.*, 2009; Huber *et al.*, 2010).

Sin embargo, se han identificado otros clones de SARM procedentes de cerdos en diversos países. Armand-Lefevre *et al.* (2005) en un estudio realizado en Francia encontraron, una gran diversidad de cepas de SARM, identificando los clones ST433, ST9,

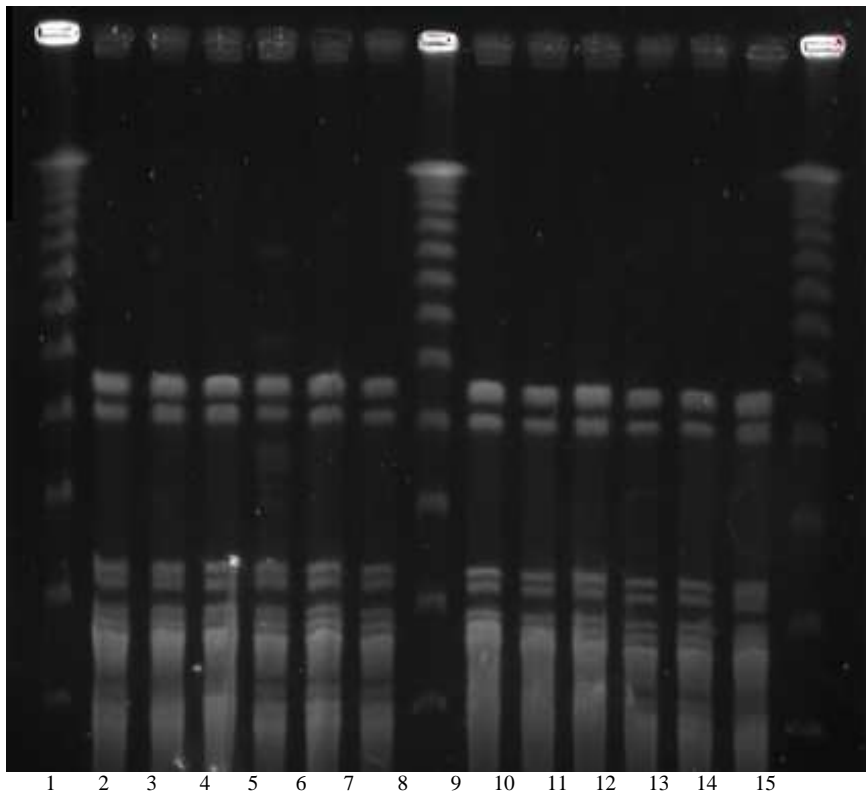


Figura 1. Gel de electroforesis en campos pulsantes.

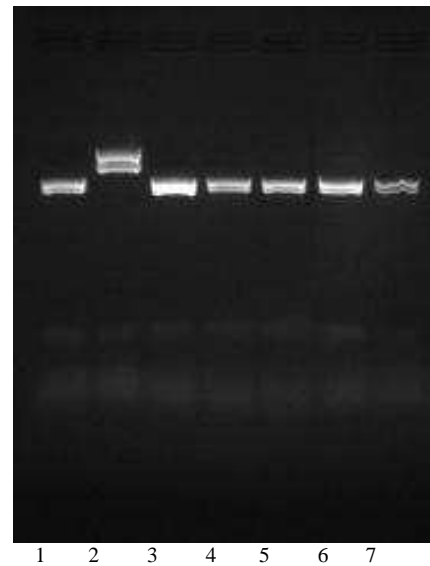


Figura 2. Gel de electroforesis SCCmec.

ST97, además del ST398. Khanna *et al.* (2008), en un estudio realizado en Canadá encontraron el ST398 y el ST5/USA100. Battisti *et al.* (2010) en Italia, encontraron las cepas ST398, ST9, ST97. En Asia, existe un gran predominio de la cepa ST9 (Guardabassi *et al.* 2009; Cui *et al.* 2009).

En la caracterización genotípica mediante electroforesis en campo pulsantes (PFGE), al realizar el análisis de las imágenes obtenidas se evidencia el aislamiento de un mismo pulso tipo. El estudio del genotipo según los patrones obtenidos y posterior secuenciación de los mismos y, basándonos en los criterios de Tenover, indicó que todas las cepas de los SARM aislados pertenecen a un mismo clon, la cepa porcina ST398.

En todas las cepas obtenidas de SARM se documentó la presencia del gen *Mec A*.

En la Figura 2, estudio de SCCmec, los carriles 1 y 2 muestran las cepas control con los tipos de cassette de resistencia IV y V, y los carriles 3 al 7 muestran las muestras a estudiar.

En la tipificación del SCCmec (Staphylococcal chromosome cassette mec), al estudiar el cassette cromosómico estafilocócico de las cepas de SARM ST398 se obtuvo que el 100 % de las cepas presentan el SCCmec tipo IV.

En España, Gómez-Sanz et al. (2010) en Logroño, encontraron en un estudio realizado en cerdos de distintos grupos de edad, recogidas en 2 mataderos de la Rioja, las cepas ST398 (en mayor proporción) y ST1379.

Morcillo et al. (2010), realizaron un estudio de la prevalencia de SARM en cerdos de diferente raza en dos grupos de edad, lechones (hasta 2 meses) y de cebo (más de 3 meses) provenientes de distintas granjas de Tenerife con cría intensiva y cuyas muestras nasales fueron recogidas en el Matadero Insular de Tenerife, obteniendo una prevalencia del 90% del total de cerdos y del 100% en los lechones

superior a la obtenida en nuestro estudio en cerdo negro canario. Smith et al. (2009) encontraron una tendencia de descenso significativo de la prevalencia de este microorganismo a medida que aumenta la edad de los animales, siendo los cerdos de 15 semanas o menos, los más colonizados en comparación con los adultos (OR: 2.17, 95% I.C.). En este mismo sentido, en España, Gómez-Sanz et al. (2010) que distinguen entre cerdos de cebo (53 muestras) y lechones (53 muestras) obtuvieron prevalencias del 21 y 49% respectivamente, indicando, como conclusión de su estudio, que es importante considerar la edad de los animales a la hora de diseñar y comparar los estudios, ya que existen diferencias de colonización según grupos de edad. Sin embargo, en Canadá Khanna et al. (2008) estudiaron cerdos de tres grupos de edad y no encontraron diferencias entre lechones lactantes (20 % de positividad), destetados (28 % de positividad) y cerdos de cebo (26% de positividad).

Los aislados de SARM de este estudio presentan resistencias elevadas a diversos antimicrobianos. Existen diversos estudios que incluyen datos de susceptibilidad a distintos antibióticos de las cepas de SARM aislados de cerdos. Así, el 23% de los aislamientos de SARM del estudio de Neeling et al. (2007) en Holanda, presentaron resistencia a eritromicina y clindamicina. En este mismo estudio indican que el 36% fueron resistentes a la gentamicina y tobramicina, porcentaje inferior al obtenido por nosotros para los dos aminoglucósidos testados, gentamicina y tobramicina. Para el resto de los antibióticos encuentran el 100% de sensibilidad, sin embargo nosotros obtenemos un porcentaje elevado de resistencia al cotrimoxazol (85,5%), superior al 52% que obtienen van Duijkeren et al. (2008), que afirman que la presión de la selección

Referencia	País	Nº	Prevalencia	Punto de muestreo
Huijsdens et al. (2006)	Holanda	10	80%	Granja
De Neeling et al. (2007)	Holanda	540	39%	Matadero
Guardabassi et al. (2007)	Dinamarca	100	10%	Granja
Khanna et al. (2008)	Canadá	285	25%	Granja
Van Duijkeren et al. (2008)	Holanda	310	11%	Granja
Meemken et al. (2008)	Alemania	678	13%	Granja
Wulf y Voss (2008)	Holanda	-	39%	Matadero
Smith et al. (2009)	Estados Unidos	299	70%	Granja
Guardabassi et al., (2009)	Hong Kong	100	16%	Granja
Cui et al., (2009)	China	509	11,4%	Granja
Gómez-Sanz et al., (2010)	España	106	35%	Matadero
Broens et al. (2010)	Holanda	117	59,8-0,0%	Granja-Matadero
Huber et al. (2010)	Suiza	800	1,3%	Granja
Horgan et al. (2010)	Irlanda	440	0%	Matadero
Morcillo et al. (2010)	España	100	90%	Matadero

Tabla 3. Prevalencia de colonización de cerdos por SARM

antimicrobiana es uno de los factores probables que han facilitado la emergencia y dispersión del SARM veterinario, siendo las tetraciclinas y el cotrimoxazol los más empleados y a los que estos microorganismos son más resistentes. En otro estudio holandés, van den Broek *et al.* (2009) encuentran elevada resistencia a cotrimoxazol, eritromicina y clindamicina, siendo del 52% para los tres antibióticos, inferior al obtenido por nosotros para cotrimoxazol y clindamicina un 85.5 % y 87.7 % respectivamente.

CONCLUSIONES

La prevalencia de SARM en muestras nasales procedentes de Cerdos Negros Canarios es elevada. Un importante número de aislados de SARM presentaron elevada multiresistencia a los antibióticos ensayados. Consideramos imprescindible la aplicación de medidas preventivas en las granjas para tratar de impedir la colonización de SARM en los trabajadores expuestos y un mayor control del consumo de antibióticos de los cerdos en las granjas, con la finalidad de evitar la selección y difusión de microorganismos resistentes.

BIBLIOGRAFÍA

- 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.
- Battisti A, Franco A, Merialdi G, Hasman H, Iurescia M, Lorenzetti R Heterogeneity among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from Italian pig finishing holdings. *Vet Microbiol* 2010;19: 361-6.
- Broens EM, Graat EA, 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* 2010; 98:182-9.
- Cui S, Li J, Hu C, Jin S, Li F, Guo Y *et al.* Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from swine and workers in China. *J Antimicrob Chemother* 2009; 64:680-3.
- de Neeling AJ, van den Broek MJ, Spalburg EC, van Santen-Verheuevel MG, Dam-Deisz WD, Boshuizen HC *et al.* High prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in pigs. *Vet Microbiol* 2007; 122:366-72.
- Enright MC, Spratt BG. Multilocus sequence Typing. *Trends Microbiol* 1999; 7:482-487.
- Enright MC, Day N.P.J., Davies C.E., Peacock, Spratt B.J. Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 2000;38:1008-1015.
- 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 USA* 2002; 28(11):7687-92.
- Gómez-Sanz E, Torres C, Lozano 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.
- Guardabassi L, Stegger M, Skov R0. Retrospective detection of methicillin resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* ST398 in Danish Slaughter pigs. *Vet Microbiol* 2007; 122: 384-386.
- Guardabassi L, O'Donoghue M, Moodley A, Ho J, Boost M. Novel lineage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, Hong Kong. *Emerg Infect Dis* 2009; 15:1998-2000.
- Horgan M, Abbott Y, Lawlor PG, Rossney A, Coffey A, Fitzgerald GF A study of the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs and in personnel involved in the pig industry in Ireland. *Vet J* 2010; 29. Available in www.elsevier.com/locate/tvj.
- 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. Apr 22; 15(16). pii: 19542.
- Huijsdens XW, van Dijke BJ, Spalburg E, van Santen-Verheuevel MG, Heck ME, Pluister GN *et al.* Community-acquired MRSA and pig-farming. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2006; 10;5:26.
- Khanna T, Friendship R, Dewey C, Weese JS. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* colonization in pigs and pig farmers. *Vet Microbiol* 2008; 30:298-303.
- Lewis HC, Mølbak K, Reese C, Aarestrup FM, Selchau M, Sørum M *et al.* Pigs as source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 infections in humans, Denmark. *Emerg Infect Dis* 2008; 14:1383-9.
- Meemken D, Cuny C, Witte W, Eichler U, Staudt R, Blaha T. Occurrence of MRSA in pigs and in humans involved in pig production--preliminary results of a study in the northwest of Germany. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2008;115:132-9.
- Montesinos I, Salido E, Delgado T, Cuervo M, Sierra A Epidemiologic genotyping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis at a University hospital and comparison with antibiotyping and protein A and coagulase gen polymorphisms. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40,2119-2125.
- Morcillo A, Gonzalez JC, Castro B, Rodríguez C, Sierra A, Arias A. Prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (SARM) en la cabaña porcina de Tenerife. *Hig Sanid Ambient* 2010; 10:664-668.

- Murakami, W Minamide, K Wada, Nakamura E, Teraoka H, Watanabe 1.991. Identification of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2240-4.
- 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. - pág. 4(1):e4258.
- Schijffelen MJ, Boel CH, van Strijp JA, Fluit AC. Whole genome analysis of a livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 isolate from a case of human endocarditis. *BMC Genomics* 2010;14;11:376.
- Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, Swaminathan B. Interpretación de los patrones de restricción de ADN cromosómico producido por electroforesis en gel de campo pulsado: criterios para la tipificación bacteriana. *J Clin Microbiol.* 1995; 33: 2233-2239.
- van Belkum A, Melles DC, Peeters JK, van Leeuwen WB, van Duijkeren E, Huijsdens XW et al. Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* sequence type 398 in pigs and humans. *Emerg Infect Dis* 2008; 14:479-83.
- van den Broek IV, van Cleef BA, Haenen A, Broens EM, van der Wolf PJ, van den Broek MJ. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in people living and working in pig farms. *Epidemiol Infect* 2009; 137:700-8.
- van Duijkeren E, Ikawaty R, Broekhuizen-Stins MJ, Jansen MD, Spalburg EC, de Neeling AJ et al. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains between different kinds of pig farms. *Vet Microbiology* 2008; 126; 383-389.
- Voss A, Loeffen F, Bakker J, Klaassen C, Wulf M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect Dis* 2005; 11(12):1965-6.
- Wulf M, Voss A. MRSA in livestock animals-an epidemic waiting to happen. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14:519-21.