

**Universidad de Granada**

**Facultad de Medicina**

**Departamento de Microbiología**



**Análisis de los patrones de  
resistencia a antibióticos en  
*Staphylococcus aureus*,  
*Enterococcus faecalis* y  
*Streptococcus agalactiae* aislados  
en muestras clínicas de nuestro  
medio**

Eva Román Márquez  
Granada, 2008

Editor: Editorial de la Universidad de Granada  
Autor: Eva Román Márquez  
D.L.: GR.1865-2008  
ISBN: 978-84-691-5692-6

# Universidad de Granada

## Facultad de Medicina

### Departamento de Microbiología

Los que suscriben, D. José Gutiérrez Fernández, Profesor Titular de Microbiología de la Universidad de Granada, D. Antonio Sorlózano Puerto, Profesor Ayudante Doctor del área de Microbiología de la Universidad de Granada y Dña. Isabel Baena Parejo, delegada provincial del Servicio Andaluz de Salud en Córdoba

#### **CERTIFICAN:**

**Que Dña. Eva Román Márquez, Licenciada en Farmacia, ha realizado el trabajo de Tesis Doctoral que lleva por título “Análisis de los patrones de resistencia a antibióticos en *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus agalactiae* aislados en muestras clínicas de nuestro medio”, que ha sido realizado bajo su dirección y reúne todos los requisitos necesarios para su juicio y calificación.**

**Lo que suscriben en Granada, a 15 de Julio de 2008**

Fdo: D. José Gutiérrez Fernández Fdo: D. Antonio Sorlózano Puerto Fdo: Dña. Isabel Baena Parejo

*Antes de iniciar el desarrollo del presente trabajo, deseo expresar mi más sincera gratitud a todos aquellos que con su ayuda lo han hecho posible:*

*A mis directores, Isabel Baena Parejo, José Gutiérrez Fernández y Antonio Sorlózano Puerto, por el interés, esfuerzo y paciencia constante que han prestado a lo largo de la realización de esta Tesis Doctoral.*

*Al doctor José Cabeza Barrera, jefe del Servicio de Farmacia del Hospital San Cecilio de Granada, por su estímulo y entusiasmo demostrados hacia nuestra profesión, de los cuales he aprendido a lo largo de estos años.*

*A los facultativos y compañeros del Servicio de Farmacia del Hospital San Cecilio, Miguel Damas, Inmaculada Vallejo, Francisco Rodríguez, José M<sup>a</sup> González, M<sup>a</sup> Carmen Malo y M<sup>a</sup> Soledad Socías, por los momentos compartidos y por permitirme aprender de ellos.*

*A los amigos que me acompañaron en el recorrido de la Farmacia de Hospital durante cuatro años: M<sup>a</sup> José Vergara, Antonio Salmerón, Sol Cortés, Javier Álvarez, Gema Toledano, Mercedes González, Loli Trujillo, Aurora Molina y Maribel Fernández.*

*A los alumnos de prácticas tuteladas, becarias y auxiliares, por los buenos momentos compartidos, cada día, durante estos años.*

*A M<sup>a</sup> Ángeles García y Esther Espínola, farmacéuticas del Distrito Sanitario de Granada, por sus conocimientos sobre el manejo de las bases de datos del Sistema Público Sanitario de Andalucía.*

*A los miembros del grupo de investigación CTS521, por el apoyo técnico y económico prestado.*

*A los Servicios de Microbiología del Hospital San Cecilio de Granada y Nuestra Señora de Valme de Sevilla, por proporcionar los aislados bacterianos necesarios para realizar los estudios de sensibilidad de este trabajo.*

*Al doctor Juan de Dios Luna, por su inestimable ayuda en el campo de la Estadística.*

*A la "Fundación Hospital Clínico", por favorecer, en el ámbito del Hospital "San Cecilio", la realización de trabajos de investigación.*

*A mis amigos, a mi familia y a Kiko.*

*A todos, gracias.*

# ÍNDICE

	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>El problema de las resistencias a los antibióticos</b>	<b>2</b>
<b>Antibióticos betalactámicos</b>	<b>4</b>
Mecanismos de resistencia	<b>6</b>
Evolución de la resistencia	<b>10</b>
<b>Glucopéptidos</b>	<b>17</b>
Mecanismos y evolución de la resistencia a glucopéptidos	<b>18</b>
<b>Daptomicina</b>	<b>27</b>
<b>Aminoglucósidos</b>	<b>30</b>
Mecanismos de resistencia	<b>32</b>
Evolución de la resistencia	<b>35</b>
<b>Quinolonas</b>	<b>38</b>
Mecanismos de resistencia	<b>40</b>
Evolución de la resistencia	<b>43</b>
<b>Macrólidos, lincosamidas y estreptograminas</b>	<b>44</b>
Mecanismos de resistencia	<b>46</b>
Evolución de la resistencia	<b>49</b>
<b>Quinupristina-dalfopristina</b>	<b>50</b>
<b>Telitromicina</b>	<b>51</b>
<b>Tetraciclinas</b>	<b>53</b>
Mecanismos de resistencia	<b>54</b>
Evolución de la resistencia	<b>56</b>
<b>Tigeciclina</b>	<b>57</b>

	<b>Pág.</b>
<b>Trimetoprima-sulfametoxazol (Cotrimoxazol)</b>	<b>58</b>
Mecanismos de resistencia	<b>60</b>
Evolución de la resistencia	<b>61</b>
<b>Rifampicina</b>	<b>62</b>
<b>Oxazolidinonas</b>	<b>64</b>
<b>Estrategias de prevención y control del desarrollo de resistencias</b>	<b>66</b>
<b>Situación del consumo antibiótico en España</b>	<b>70</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>77</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>80</b>
<b>Selección de los aislados bacterianos</b>	<b>81</b>
<b>Estudio de sensibilidad antibiótica por método de microdilución</b>	<b>83</b>
<b>Procedimientos de difusión con disco</b>	<b>93</b>
<b>Actividad de tigeciclina frente a <i>S. aureus</i> y <i>S. agalactiae</i> mediante prueba de epsilon</b>	<b>98</b>
<b>Determinación de la dosis diaria definida (DDD)</b>	<b>99</b>
<b>Método estadístico</b>	<b>101</b>
Comparación de la sensibilidad de los aislados en ambos hospitales	<b>101</b>
Relación entre consumo de antibióticos y sensibilidad, en <i>S. aureus</i>	<b>101</b>



	<b>Pág.</b>
<b>RESULTADOS</b>	<b>102</b>
<b>Sensibilidad de los aislados según el ensayo de microdilución</b>	<b>103</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>103</b>
<i>Enterococcus</i> spp.	<b>124</b>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<b>135</b>
<b>Actividad de tigeciclina frente a los aislados de <i>S. aureus</i> y <i>S. agalactiae</i></b>	<b>146</b>
<b>Relación entre dosis diaria definida (DDD) y sensibilidad antibiótica</b>	<b>149</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>154</b>
<b>Sensibilidad de los aislados</b>	<b>155</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>155</b>
<i>Enterococcus</i> spp.	<b>164</b>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<b>165</b>
<b>Actividad de tigeciclina</b>	<b>167</b>
<b>Relación entre consumo de antibióticos y sensibilidad de los aislados</b>	<b>168</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>174</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>177</b>

# **INTRODUCCIÓN**

## **EL PROBLEMA DE LAS RESISTENCIAS A LOS ANTIBIÓTICOS**

La resistencia bacteriana es un fenómeno extraordinariamente frecuente y en continua evolución, que afecta a un número cada vez más importante de antibióticos. Las bacterias, especialmente las patógenas humanas, poseen poblaciones con capacidad infinita de mutación, capaces de diseminar el carácter de resistencia, no sólo de forma vertical (por mutaciones cromosómicas), sino también de forma horizontal, a través de plásmidos, transposones e integrones, procedentes de las más variadas especies y géneros bacterianos, y que pueden proveer a una bacteria de elementos que codifiquen resistencia a antibióticos (Hughes y Datta, 1983). Estos procesos han hecho que, microorganismos frecuentes en la etiología de las infecciones, tanto comunitarias como hospitalarias, hayan desarrollado diferentes grados de resistencia a antibióticos que, inicial o recientemente, eran considerados de mayor eficacia terapéutica. El resultado último de esta resistencia es la disminución o desaparición de la eficacia del tratamiento antibiótico.

Además, la adquisición de resistencia antibiótica no es un fenómeno aislado, también es importante la capacidad de las bacterias para ir adquiriendo o acumulando resistencia a varios antibióticos. Así, el calificativo de “bacteria multirresistente” se aplica a aquellos microorganismos que presentan resistencia a 3 ó más grupos de antibióticos no relacionados entre sí, y utilizados habitualmente en el tratamiento de las infecciones producidas por éstos (Cantón y cols., 1999). En general, la multirresistencia se debe a la adquisición de varios mecanismos, aunque, en algunas ocasiones, uno de ellos puede afectar a antibióticos de diferentes familias (es lo que se denomina resistencia pleiotrópica, siendo la impermeabilidad un ejemplo de ésta). Este hecho es multifactorial y está en relación con la acumulación de mutaciones en

los patógenos resistentes, la formación de estructuras genéticas complejas capaces de acumular genes de resistencia por diferentes mecanismos de integración y recombinación, la persistencia de las poblaciones bacterianas bajo la acción selectiva de los antibióticos y la capacidad de compartir material genético mediante el proceso de conjugación (Baquero, 1997).

Por otro lado, el término “resistencia cruzada” hace referencia a los mecanismos que afectan a antibióticos de la misma familia (Cantón y cols., 1999). Un buen ejemplo lo constituye la resistencia a meticilina en estafilococos, ya que se ven afectados todos los antibióticos betalactámicos. Además, los estafilococos resistentes a meticilina se podrían considerar como patógenos multirresistentes, ya que, habitualmente, suelen presentar mecanismos que afectan a otros antibióticos como aminoglucósidos, macrólidos, fluorquinolonas, etc. (Cantón y cols., 2006).

Los microorganismos multirresistentes pueden agruparse en dos apartados generales, no siempre excluyentes. El primer grupo incluiría a aquellos microorganismos que han adquirido este carácter por mutación o adquisición de genes de resistencia; como ejemplos destacarían *Staphylococcus aureus* meticilin-resistente (SARM), *S. aureus* con sensibilidad intermedia a glucopéptidos (GISA) o los enterococos resistentes a vancomicina (ERV), entre otros. En un segundo grupo tendríamos a aquellos microorganismos que presentan resistencia intrínseca a diferentes familias de antibióticos por uno o varios mecanismos. En este grupo se incluirían, por ejemplo, los enterococos, con resistencia intrínseca a cefalosporinas, aminoglucósidos o cotrimoxazol, por ejemplo.

La persistencia de las poblaciones bacterianas y la asociación de los genes de resistencia a estructuras genéticas complejas, han contribuido a que algunos de estos

genes de resistencia estén ampliamente difundidos, y no sólo entre las bacterias patógenas, sino también entre las que conforman la microbiota medioambiental y la microbiota colonizante en el ser humano (Aleksun y Levy, 2006). En términos clínicos, la coselección y el impacto ecológico sobre los microorganismos resistentes presentes en la microbiota, ha sido calificada como un daño colateral derivado de la utilización de los antibióticos, de manera que los nuevos deberían evitar, o al menos minimizar, estos daños colaterales.

A continuación estudiaremos los posibles mecanismos de resistencia antibiótica que, potencialmente, podrían estar presentes en las tres especies bacterianas objeto del presente trabajo: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus agalactiae*.

## **ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS**

La mayoría de antibióticos empleados en la práctica clínica, tanto a nivel hospitalario como a nivel de la comunidad, pertenecen a este grupo, debido a sus características fundamentales: elevada eficacia, baja toxicidad, amplio espectro de actividad y amplio margen terapéutico.

Los antibióticos betalactámicos son moléculas químicamente diversas pero que tienen en común la presencia de un anillo betalactámico en su estructura. Éste consiste en un heterociclo de cuatro átomos con un oxígeno en posición  $\beta$  con respecto al nitrógeno de la lactama. Aunque este ciclo aislado es esencial, y define la estructura básica del antibiótico, sin embargo, carece de actividad, por lo que necesita estar asociado a otros anillos, y, dependiendo de éstos, se obtienen los diferentes antibióticos de esta familia. Dichas diferencias se traducirán en cambios en

el espectro de actividad, resistencia antibiótica y propiedades farmacocinéticas (Gutiérrez y Fresnadillo, 2006).

La clasificación básica (tabla 1) de los betalactámicos incluye penicilinas, cefalosporinas, inhibidores de las betalactamasas, carbapenemas y monobactamas (aunque éstos últimos sólo son activos frente a microorganismos gramnegativos).

**Tabla 1.** Clasificación de los antibióticos betalactámicos

<b>PENICILINAS</b>	
<b>Sensibles a betalactamasas</b>	Bencilpenicilina, Fenoxibencilpenicilina, Ampicilina, Amoxicilina, Piperacilina, Carbenicilina, Ticarcilina, Mezlocilina, Azlocilina
<b>Resistentes a betalactamasas</b>	Meticilina, Nafcilina, Oxacilina, Cloxacilina, Dicloxacilina <b>Asociaciones con inhibidores de betalactamasas:</b> Amoxicilina-clavulánico, Ampicilina-sulbactam, Piperacilina-tazobactam
<b>CEFALOSPORINAS</b>	
<b>Primera Generación</b>	Cefazolina, Cefalotina, Cefradina, Cefalexina, Cefadroxilo
<b>Segunda Generación</b>	Cefamandol, Cefuroxima, Cefonicida, Ceforanida, Cefaclor, Cefprozilo, Cefoxitina, Cefotetán, Cefmetazol
<b>Tercera Generación</b>	Ceftriaxona, Cefotaxima, Ceftazidima, Ceftizoxima, Ceftributeno, Cefdinir, Cefixima, Cefpodoxima, Cefoperazona, Cefditoreno
<b>Cuarta Generación</b>	Cefepima
<b>CARBAPENÉMICOS</b>	
Imipenem-cilastatina, Meropenem, Ertapenem	
<b>MONOBACTÁMICOS</b>	
Aztreonam	

Su mecanismo de acción deriva de la similitud estructural del anillo betalactámico con el dipéptido D-alanina-D-alanina (Tipper y Strominger, 1965) que le permite interactuar con diversas proteínas enzimáticas con actividad de transpeptidasas y carboxipeptidasas situadas en la superficie de la membrana plasmática bacteriana, y que son moléculas encargadas de modelar la configuración definitiva de la capa del peptidoglucano, además de guiar su reorganización durante la división de las bacterias. A estas proteínas de membrana las conocemos, genéricamente, como proteínas fijadoras de penicilina (penicillin binding proteins o PBP) (Spratt, 1983). La actividad antibacteriana de los betalactámicos está, pues, en relación con su capacidad para interferir, de forma competitiva, en la actividad de las PBPs.

Sin embargo, la acción bactericida de los antibióticos betalactámicos no está ligada directamente a la interferencia con la síntesis del peptidoglucano, sino que el bloqueo de las PBPs permite la actuación de enzimas hidrolíticas (autolisinas endógenas) en las bacterias que disponen de ellas, y como consecuencia se produciría la lisis bacteriana (Tomasz, 1979). Las bacterias que carecen de autolisinas son inhibidas, pero no destruidas (efecto bacteriostático y no bactericida del antibiótico betalactámico).

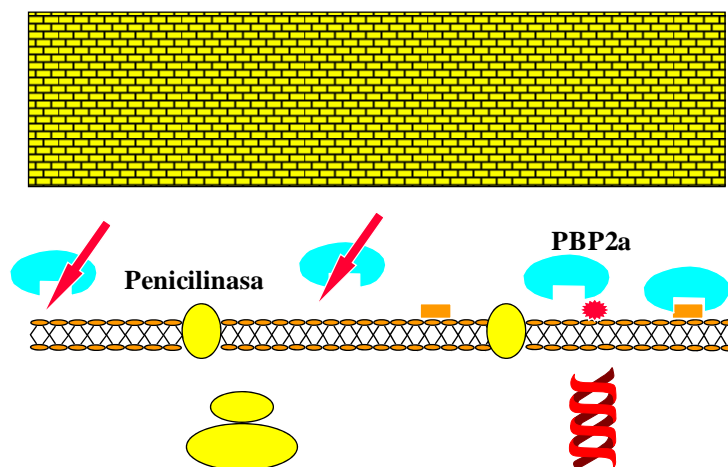
### **Mecanismos de resistencia**

En la actualidad, más del 90% de los aislados clínicos de *Staphylococcus* spp. son resistentes a penicilina debido a la producción de penicilinasas (figura 1), siendo éste el mecanismo más común de resistencia a los antibióticos betalactámicos en este género (Marín y Gudiol, 2003). Estas enzimas están codificadas por el gen *bla*,

normalmente localizado en un plásmido, e hidrolizan las penicilinas dando lugar a ácido penicilánico, inactivo. Debido a que el principal mecanismo de resistencia de las bacterias grampositivas a los antibióticos betalactámicos son las betalactamasas plasmídicas, su capacidad de ser transmitidas entre las diferentes especies es muy alta y, por tanto, se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza (Murray y Mederski-Samaroj, 1983).

La concentración mínima inhibitoria (CMI) en aislados de *S. aureus* totalmente sensibles a penicilina G es de, aproximadamente, 0,01 µg/ml. Por el contrario, la CMI de antibióticos resistentes a las penicilinasas como oxacilina o cefalosporinas es 10 veces superior. Por esta razón, penicilina G sigue siendo una de las mejores opciones frente a estafilococos sensibles a penicilina.

**Figura 1:** Resistencia a betalactámicos en *Staphylococcus* spp.



Los primeros betalactámicos resistentes a la acción de las penicilinasas, como las penicilinas semisintéticas, meticilina y nafcilina, estuvieron disponibles en los años 50. Irónicamente, el primer aislado de *S. aureus* resistente a meticilina (a los que comúnmente se les denomina cepas SARM) se describió poco tiempo después (Jevons, 1961), y la prevalencia de este tipo de aislados se ha ido incrementando



progresivamente desde entonces, constituyendo el problema de resistencia más importante en este género. Además, desde su aparición, estas cepas se han caracterizado por la presencia de resistencia añadida a otros antibióticos no betalactámicos.

El mecanismo de resistencia a meticilina no está mediado, sin embargo, por penicilinasas, sino por la proteína PBP2a (figura 1), una PBP de baja afinidad por los antibióticos betalactámicos que está codificada por el gen *mecA*. Este gen, de aproximadamente 2 kb, se encuentra situado en un complejo móvil (complejo *mec*) formado por el propio gen de resistencia a la meticilina y sus genes reguladores (*mecI* y *mecR*) que residen en una isla genómica denominada *staphylococcal cassette chromosome mec* (SCC*mec*) que, además, contiene el complejo del gen *ccr* (que codifica las recombinasas responsables de su movilidad), y, en numerosas ocasiones, transposones y genes que codifican resistencia a antibióticos no betalactámicos. Los estudios de evolución genética y análisis de estructura poblacional y polimorfismo del elemento SCC*mec* han demostrado que el gen *mecA* ha sido transferido a aislados de *S. aureus* sensibles a meticilina en más de 20 ocasiones y que este proceso se produjo, al menos, en 5 ó más linajes filogenéticamente distintos (Enright y cols., 2002). Actualmente se conocen 5 tipos de SCC*mec* (I a V) en *S. aureus*. Los tipos I, IV y V codifican resistencia sólo a antibióticos betalactámicos, mientras que los tipos II y III presentan también la capacidad de codificar resistencia a otros antibióticos (Ito y cols., 2003). Además se ha estudiado la relación de estos linajes con las cepas de SARM y su origen o procedencia, de manera que los tipos I, II y III se relacionan con cepas de origen nosocomial y los tipos IV y V están relacionados con los aislados procedentes de la comunidad (Ma y cols, 2002; Okuma y cols., 2002).

Debido a la baja afinidad que muestra la PBP2a por los betalactámicos, puede encargarse del ensamblaje del peptidoglucano de la pared celular cuando las PBPs normales están inhibidas por estos antibióticos (de Jonge y Tomasz, 1993). Aunque, potencialmente, la presencia de una PBP de baja afinidad confiere una alta resistencia a todos los betalactámicos, la PBP2a necesita que los precursores de la pared celular contengan una peptidoglicina en la cara interna de la cadena adosada a la L-lisina de la posición 3 del péptido inicial, al igual que otros requerimientos tales como una D-glutamina amidada en posición 2 del péptido. Proporcionar este sustrato adecuado a la PBP2a requiere la funcionalidad de numerosos genes accesorios implicados en la maquinaria normal de construcción de la pared (de Lencastre y cols., 1999). Estos mecanismos incluyen más de 20 regiones determinantes, algunas de las cuales, como *femABC* y *fhmB*, son responsables de añadir los restos de glicina necesarios para que la PBP2a funcione. Cualquier alteración en estos elementos disminuye la expresión de resistencia a meticilina aunque esté presente la PBP2a. Se puede afirmar, por tanto, que no todos los aislamientos que tienen el gen *mec* expresan de igual modo la resistencia a meticilina y al resto de antibióticos betalactámicos. Existen estirpes con expresión constitutiva, con alto grado de resistencia, y otras poblaciones heterogéneas que presentan diferentes sensibilidades dependiendo de la presencia de genes auxiliares o esenciales para la expresión (genes *fem* y *fhm*) y está condicionada por la producción simultánea de betalactamasas, las características del medio y las condiciones de crecimiento (Chambers, 1997; de Lencastre y cols., 1994).

Otro inconveniente de este mecanismo de resistencia es que contiene sólo un dominio transpeptidasa y ha perdido la actividad transglucosidasa. Por tanto, para

ensamblar con éxito el peptidoglucano, la proteína PBP2a necesita incluir el dominio transglucosidasa de una PBP estafilocócica normal, como la PBP2 (Pinho y cols., 2001). En estos casos, el desarrollo de fármacos efectivos debe incluir betalactámicos que puedan bloquear las PBPs normales de estafilococos y además, a la PBP2a (Lim y Strynadka, 2002; Tomasz, 2003).

Se considera que una cepa de *S. aureus* es resistente a meticilina cuando su CMI es igual o superior a 16 µg/ml, o cuando la CMI a oxacilina es igual o superior a 4 µg/ml (CLSI, 2007). Como se ha comentado, algunas cepas de SARM presentan una expresión heterogénea de la resistencia a meticilina, aunque todas las células sean portadoras del gen *mecA*. En estos casos la detección fenotípica de la resistencia a meticilina en el laboratorio puede mejorarse mediante el aumento del inóculo bacteriano, la incubación en las pruebas de sensibilidad a 30° C, la utilización de medios suplementados con cloruro de sodio y el uso combinado de oxaciclina y cefoxitina como antibióticos marcadores (Martínez, 1999; Torres, 2002). Otras técnicas para la detección de la resistencia a meticilina son la detección del gen *mecA* por PCR o la detección de la PBP2a por aglutinación con látex. Esta última es una técnica rápida y sencilla, que se ha desarrollado comercialmente, y cuya sensibilidad y especificidad son similares a las de la PCR (Martínez, 1999).

### **Evolución de la resistencia**

El incremento en las cifras de prevalencia de infecciones por SARM a partir de la década de los 80, ha sido un hecho que podemos constatar en distintos entornos geográficos.

En Europa, dicha prevalencia ha oscilado desde menos del 1% en 1980, hasta el 30% en 1991, con una distribución similar entre los diferentes países (Voss y cols., 1994). Por su parte, en Estados Unidos, la prevalencia de SARM aislados en hospitales aumentó de un 2,1% en 1975 al 35% en 1991 (Panlilio y cols., 1992). En un informe del Programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY con datos referidos a años posteriores, 1998 a 2004, la prevalencia de SARM tuvo la siguiente distribución (Moet y cols., 2007): Europa, 22,8%; Norteamérica, 35,9% y Latinoamérica, 29,4%.

Este curso ascendente en la prevalencia de SARM también se ha constatado en España. Tras el primer brote de SARM descrito en 1981 (Pérez-Trallero y cols., 1981), la resistencia a meticilina se incrementó desde un 1,5% en 1989, a un 17,9% en 1996, alcanzando incluso cifras en torno al 30% en algunos hospitales en la década de los 90 (Asensio y cols., 2006; Cuevas y cols., 2004). En estudios posteriores estas cifras se han mantenido, así, en el estudio European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) del año 2000, con aislados clínicos obtenidos de pacientes con bacteriemia en 31 hospitales españoles, se encontró un porcentaje de SARM del 28% (Oteo y cols., 2002), y en el estudio EARSS 2000-2002 (Oteo y cols., 2004) sobre una muestra de 40 hospitales españoles, la resistencia a meticilina se detectó en 762 aislamientos de *S. aureus* (24,5% de los aislados clínicos de esta especie). Por último, en el estudio español de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (VIRA) del año 2006 en el que participan hospitales de toda España, se confirma que la cifra de SARM actual de nuestro país es del 29%, con lo cual parece que la tendencia se estabiliza, en los últimos años, en torno al 30% (Picazo y cols., 2006).

Aunque, inicialmente, la aparición de SARM se consideró un problema principalmente hospitalario, se ha detectado un progresivo incremento en las infecciones producidas por SARM de origen comunitario (Chambers, 2001). Al principio se pensó que estos aislados habían surgido a partir de los aislamientos hospitalarios, que habían escapado de su ambiente original y penetrado en la comunidad. Sin embargo, la epidemiología clínica y microbiológica indica que estamos viviendo dos evoluciones separadas. Por un lado, los aislados en el hospital son multirresistentes y están asociados a factores de riesgo como la hospitalización o la cirugía, vivir en una residencia y tener un catéter o dispositivo en una vía (Salgado y cols., 2003). Por otro lado, los SARM aislados en la comunidad presentan pocas corresponsibilidades y producen, fundamentalmente, enfermedades cutáneas y neumonía grave en personas sanas. Además, aunque tanto las cepas hospitalarias como las procedentes de la comunidad albergan el gen *mecA*, son muy diferentes en cuanto a su origen (tipos de SCC*mec* ya comentados). Por tanto, los dos tipos de organismos no son iguales (Udo y cols., 1993). Prácticamente todos los SARM que afectan a pacientes de riesgo suelen ser del tipo multirresistente, mientras que aquellos pacientes sin riesgo se infectan por el tipo más sensible, pero clínicamente más invasivo debido a la presencia, en la mayoría de estos aislados, de la toxina citolítica denominada leucocidina de Panton-Valentine (Vandenesch y cols., 2003).

La asociación de resistencia a macrólidos, lincosamidas, estreptograminas, quinolonas, aminoglucósidos, rifampicina o tetraciclinas, es variable en función de los aislados (Sorlózano y cols., 2007). En España, los aislados hospitalarios obtenidos entre los años 1990 a 1995 se caracterizaban por presentar este patrón de multirresistencia, con resistencia a casi todos los antibióticos disponibles en la

práctica clínica, a excepción de glucopéptidos, cloranfenicol y cotrimoxazol (Aparicio y cols., 1992; Cercenado y cols., 1997; Domínguez y cols., 1994; Oteo y cols., 2002). Esta estirpe, denominada Clon Ibérico o ST247-MRSA-I se detectó por primera vez en 1989 en un brote en el Hospital Universitario de Bellvitge (Domínguez y cols., 1994), y se diseminó a otros países como Portugal (Sanches y cols., 1995), Alemania (Witte y cols., 1997), Escocia, Italia (Mato y cols., 1998), República Checa (Melter y cols., 1999), Bélgica (Deplano y cols., 2000), Polonia (Krzyszton-Russjan y cols., 2002), Suecia (Murchan y cols., 2003) e, incluso, Estados Unidos (Roberts y cols., 1998). Desde 1996 ha disminuido la presencia de este clon en España; asimismo, se redujo, en paralelo, la resistencia a gentamicina y rifampicina, aunque no a ciprofloxacino, que ha ido en aumento (Vindel y cols., 2006). Actualmente, están tomando fuerza otras cepas epidémicas, como por ejemplo, ST125-MRSA-IV (Chaves Sánchez y cols., 2008).

Entre el género *Enterococcus* spp. la especie patógena más frecuentemente aislada es *E. faecalis*, constituyendo del 60% al 80% de los aislados clínicos de este género (Martínez-Odriozola y cols., 2007) y, además, constituye uno de los principales microorganismos de la flora de las diversas mucosas del hombre. Es una de las causas más frecuente de infecciones urinarias, peritonitis posquirúrgicas y peritonitis terciarias, así como bacteriemias primarias y secundarias (Pallarés y cols., 1993). Su importancia, tanto a nivel clínico como epidemiológico, radica en su capacidad para incorporar elementos genéticos con propiedades virulentas y de resistencia antibiótica, que mejoran su capacidad adaptativa a entornos complejos como es el medio hospitalario (Malani y cols., 2002).

Por lo general, los antibióticos betalactámicos son menos activos frente a los enterococos que frente a los estafilococos, presentando un efecto fundamentalmente bacteriostático (Gutiérrez y Fresnadillo, 2006). Sin embargo, el fenotipo más frecuente, tanto en *E. faecalis* como en *E. faecium* incluye sensibilidad a penicilinas.

La resistencia a ampicilina, al igual que al resto de penicilinas, está mediada fundamentalmente por betalactamasas (Cercenado y cols., 1990) que pueden tener un origen estafilocócico (Gutiérrez y Fresnadillo, 2006). Sin embargo, en *E. faecium* es relativamente frecuente también encontrar cepas resistentes a penicilina, ampicilina y amoxicilina-ácido clavulánico por alteración de la PBP5, siendo este mecanismo de resistencia muy poco frecuente en *E. faecalis* (Ligozzi y cols., 1996).

En España no es muy frecuente la resistencia a ampicilina en la especie *E. faecalis*. Así, en un estudio reciente sobre aislados clínicos de enterococos obtenidos durante los años 2001 a 2006, se puso de manifiesto que la prevalencia actual de resistencia a ampicilina en esta especie, en nuestro país, es del 1,3%, mientras que para la especie *E. faecium* esta cifra es del 65,1% (Oteo y cols., 2007). En Estados Unidos la prevalencia de resistencia a ampicilina en *E. faecalis* se sitúa entre un 0,9% y un 1,8%, y para *E. faecium* entre un 69% y un 83% (Huycke y cols., 1998), aunque datos más recientes incrementan la resistencia en esta última bacteria a tasas de hasta el 90% (Mutnick y cols., 2003).

Las cefalosporinas no son útiles en el tratamiento de infecciones por este microorganismo ya que es intrínsecamente resistente debido a la imposibilidad de éstas para unirse con las PBP (Murray, 1990).

*Streptococcus agalactiae* es una bacteria colonizadora habitual de los tractos respiratorio, gastrointestinal y urogenital en la especie humana. Es una causa frecuente de infecciones graves en neonatos, incluyendo bacteriemias, neumonías y meningitis, y, para evitar estas infecciones neonatales es necesario el tratamiento antibiótico de mujeres embarazadas portadoras. Además, en la década de los 90 se experimentó un incremento importante de las infecciones producidas por dicha bacteria, principalmente en personas adultas inmunocomprometidas (Waite y cols, 1996).

El tratamiento de elección en las infecciones por *S. agalactiae* es penicilina G o ampicilina, puesto que la sensibilidad a estos antibióticos es prácticamente del 100% y se ha mantenido así a lo largo de los años en distintas áreas geográficas (Andrews y cols., 2000; Betriú y cols., 1994; Meyn y Hillier, 1997; Simoes y cols., 2004; Sorlózano y cols., 2007). En caso de pacientes con alergia a betalactámicos se recomienda utilizar clindamicina o vancomicina (CDC, 2002).

Si bien en el estudio de Betriú y cols. (1994) la tasa de resistencia de esta bacteria a betalactámicos fue del 0%, se aislaron algunas cepas que presentaban resistencia intermedia (2% para penicilina G y 8% para ampicilina). En Estados Unidos, un estudio similar al español, obtuvo una tasa del 0% de aislados con resistencia intermedia, tanto para penicilina G como para ampicilina (Meyn y Hillier, 1997). Esta diferencia con el estudio español puede estar en relación a un aumento del consumo de ampicilina en la profilaxis de mujeres embarazadas durante el parto, así, está descrito que el hecho de utilizar ampicilina en lugar de penicilina G favorece la selección de mutantes resistentes a betalactámicos debido al espectro de actividad más amplio que posee (Amstey, 1994; CDC, 2002). A lo largo de los años se ha



detectado un incremento en la aparición de cepas de *S. agalactiae* con resistencia intermedia a penicilina y ampicilina, llegando a tasas del 17% y 15%, respectivamente (Simoes y cols., 2004). Esto indica que debería realizarse una monitorización de los pacientes a la hora de utilizar penicilina o ampicilina pero que no tienen por qué dejar de utilizarse en la práctica clínica.

En la década de los 80, empezaron a surgir casos de fracaso del tratamiento antibiótico en infecciones por *S. agalactiae* con tolerancia a betalactámicos, que daban lugar a infecciones neonatales recurrentes (Kim y Anthony, 1981). En este caso, el fenómeno de la tolerancia se define como el aumento de la CMI entre 16 a 32 veces la CMI habitual, lo que se traduce en una acción bactericida más lenta, además de que son necesarias concentraciones de antibiótico mayores para provocar la acción bactericida del antibiótico. Esta tolerancia a penicilina es debida a la formación de PBPs específicas que, en presencia de los antibióticos betalactámicos, reemplazan la función de las PBPs sensibles en la síntesis de la pared celular (Reinscheid y cols., 2002). Existen datos sobre la prevalencia mundial de dicha tolerancia que la sitúan entre un 4% y 13% durante las décadas de los 80 (Broadbent, 1984; Kim y Anthony, 1981) y de los 90 (Balboa y cols., 2000). Sin embargo, en este mismo periodo hay estudios españoles con cifras de tolerancia a penicilina en torno al 17% (Betriú y cols., 1994).

Como alternativa a esta situación, y para conseguir resultados eficaces, está recomendado aumentar la dosis de betalactámicos, o bien, asociar un aminoglucósido (McCracken, 1983).

En cuanto a cefalosporinas y carbapenémicos, hay que decir que, aunque se consideran una excelente alternativa a penicilina y ampicilina (Bayer y cols., 1982;

Jacobs y cols., 1982) sin embargo, la alta eficacia, la baja capacidad de selección de resistencias por parte de las penicilinas y el menor coste, hacen que éstas sigan considerándose el tratamiento de primera línea en infecciones y profilaxis frente a *S. agalactiae*.

## **GLUCOPÉPTIDOS**

Los glucopéptidos son antibióticos con estructura peptídica que, como los betalactámicos, también inhiben la síntesis del peptidoglucano (Barna y Williams, 1984). Vancomicina y teicoplanina son los únicos representantes de este grupo utilizados en clínica. Se caracterizan por presentar una estructura central heptapeptídica que se encuentra unida a distintos azúcares y restos de aminoácidos (Reynolds, 1989).

Nuevos antibióticos pertenecientes a la familia de los glucopéptidos, que podrían comercializarse próximamente son dalbavancina (ya comercializada en Estados Unidos), oritavancina y telavancina, que presentan mejoras en su farmacocinética y en el espectro de acción, mostrando actividad frente a aislados VISA y enterococos con fenotipo *VanA* (King y cols., 2004; Pace y cols., 2003).

Los glucopéptidos actúan por afinidad con el residuo D-alanina-D-alanina del extremo carboxiterminal de los precursores del peptidoglucano, impidiendo su ensamblaje, por eso, al igual que los antibióticos betalactámicos, actúan sobre bacterias en fase de crecimiento (Betriú y Picazo, 2006)

Su voluminosa estructura dificulta que puedan atravesar la membrana citoplasmática, por lo que han de actuar después de que se produzca la translocación de los precursores del peptidoglucano a la superficie de la membrana citoplasmática,

unidos al lípido transportador (undecaprenil pirofosfato). La unión del glucopéptido al resto D-alanina-D-alanina, producido por la formación de cinco puentes de hidrógeno, bloquea la incorporación de las subunidades del disacárido pentapéptido en el peptidoglucano naciente por acción de glucosiltransferasas (Reynolds, 1989). Como consecuencia de todo ello, se produce la acumulación de precursores y la inhibición de las reacciones catalizadas por las transpeptidasas y carboxipeptidasas, que no reconocen los sustratos para la síntesis del peptidoglucano.

Al igual que con los betalactámicos, también actúan las autolisinas, y, finalmente, se produce la lisis de la bacteria. Secundariamente, al inhibirse el crecimiento celular, se altera la permeabilidad de la membrana y se afecta la síntesis de ADN, ARN y proteínas.

Son bactericidas frente a la mayoría de microorganismos grampositivos, excepto frente a enterococos (Betriú y Picazo, 2006).

### **Mecanismos y evolución de la resistencia a glucopéptidos**

Los mecanismos de resistencia a glucopéptidos en *S. aureus* son distintos según se trate de aislados con sensibilidad reducida o resistencia intermedia (aislados tipo VISA o GISA, de vancomycin o glycopeptide intermediate-resistant *S. aureus*) o verdaderos aislados resistentes a glucopéptidos (aislados VRSA o GRSA, de vancomycin o glycopeptide-resistant *S. aureus*).

En 1996 se aisló por primera vez, en Japón, una cepa de *S. aureus* meticilin-resistente cuyo fenotipo de resistencia incluía, además, cierto grado de resistencia a glucopéptidos (Hiramatsu y cols., 1997a). Esta cepa, aislada de la herida quirúrgica de un niño de 4 meses sometido a una intervención cardíaca, se denominó Mu50, y

se caracterizaba por presentar una CMI de vancomicina de 8 µg/ml. Carecía de los genes *van* que se asocian a resistencia a glucopéptidos en los enterococos y poseía un fenotipo VISA, que podría explicarse por un incremento de la síntesis de la pared celular (Sieradzki y cols., 1999). Fenotípicamente, las cepas VISA se caracterizan por presentar resistencia moderada o intermedia a vancomicina, mientras que son sensibles a teicoplanina. Sin embargo, en muchas ocasiones, también existe sensibilidad reducida o resistencia a teicoplanina, de ahí el uso del término más apropiado de cepas GISA.

Al mismo tiempo, el mismo autor también describió la presencia de lo que se denominó heterorresistencia a vancomicina (hVISA). En este caso, la cepa, denominada Mu3, presentaba una CMI inferior a 4 µg/ml para vancomicina, pero poseía subpoblaciones (menos de  $1/10^6$  unidades formadoras de colonias) resistentes, capaces de crecer a concentraciones de 6 y 8 µg/ml de vancomicina (Hiramatsu y cols., 1997b). A partir de entonces y, sucesivamente, fueron apareciendo nuevos casos de aislados tipo VISA y hVISA en distintas áreas geográficas del mundo (Ariza y cols., 1999; Smith y cols., 1999).

Sin embargo, más preocupante es la descripción, a partir de 2002, de cepas de SARM con alto nivel de resistencia a vancomicina (VRSA), con valores de CMI superiores a 32 µg/ml, en las que se ha demostrado la transferencia de genes *van* desde enterococos (Chang y cols., 2003; Clark y cols., 2005).

Como hemos visto, en aislados sensibles, los glucopéptidos inhiben el ensamblaje de la pared celular uniéndose al dímero D-alanina-D-alanina terminal y bloqueando la transpeptidación. Sin embargo, las cepas GISA tienen una densa pared celular que contiene una alta cantidad de D-alanina-D-alanina libre, sin formar

enlaces. Esta cantidad elevada del dipéptido actúa como señuelo, atrapando las moléculas de glucopéptidos antes de que alcancen su diana. En estos casos, por tanto, la resistencia no se produce por transferencia de genes desde enterococos, sino que se relaciona más con la presión selectiva que ejerce la presencia del antibiótico (Betriú y Picazo, 2006). Además, se ha visto que los aislados GISA manifiestan aumento en la expresión de las PBP2a (Torres, 2002).

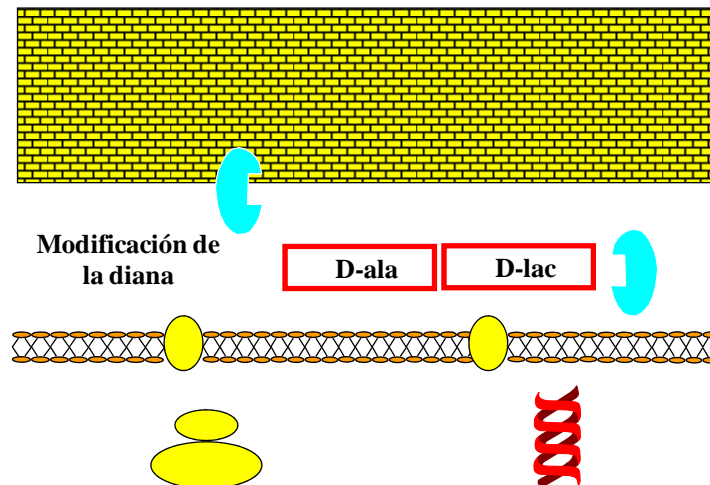
Se han descrito fracasos terapéuticos asociados, fundamentalmente, a aislamientos de tipo hGISA (Ariza y cols., 1999), ya que su bajo nivel de resistencia, y su fenotipo heterogéneo, hacen que sea difícil detectarlos en el laboratorio. Técnicas especiales, como el cribado con placas que contengan vancomicina (en concentración de 4 µg/ml) y el análisis de los perfiles poblacionales, entre otros procedimientos, son necesarios para detectar estos fenotipos (Walsh y cols., 2001).

Durante el periodo comprendido entre 2001 y 2006 en España, se ha producido un incremento gradual en las CMI de SARM a vancomicina, y se ha descrito un caso de SARM con sensibilidad disminuida a vancomicina (CMI de 4µg/ml) (Picazo y cols., 2006). Esta situación parece cuanto menos preocupante en el sentido de que es necesario establecer una adecuada vigilancia de estos aislados y poner en marcha métodos accesorios para detectar rápidamente la sensibilidad disminuida frente a vancomicina.

La resistencia a glucopéptidos en los enterococos se conoce desde hace más tiempo (Arthur y Courvalin, 1993). En estos microorganismos, la resistencia se debe a la adquisición de *Tn1546* ó *Tn1547*, dos transposones que codifican una serie de genes que modifican el precursor que contiene la D-alanina-D-alanina terminal,

transformándola en D-alanina-D-lactato. El precursor modificado con D-alanina-D-lactato presenta una baja afinidad por los glucopéptidos y esto le confiere la resistencia al microorganismo (figura 2).

**Figura 2:** Resistencia a glucopéptidos en *Enterococcus* spp.



El transposón *Tn1546*, que codifica el llamado fenotipo resistente VanA, ha sido transferido a *S. aureus*, experimentalmente (Noble y cols., 1992), lo que podría explicar la aparición de los fenotipos GRSA, como hemos visto anteriormente. Esto indica que el elemento móvil de los enterococos ha pasado al género *Staphylococcus* spp. y podría llegar a establecerse, de manera similar a como lo hacen otros elementos móviles.

La resistencia a vancomicina y teicoplanina de los enterococos es fenotípica y genotípicamente heterogénea. En *Enterococcus* spp. se diferencian varias clases: fenotipos de resistencia adquirida como VanA, VanB, VanD, VanE y VanG, mediados por los genes *vanA*, *vanB*, *vanD*, *vanE* y *vanG*, respectivamente; y fenotipos de resistencia intrínseca ligada a las especies *E. gallinarum* (gen *vanC-1*),

*E. casseliflavus* (gen *vanC-2*) y *E. flavescens* (*vanC-3*) (Leclercq y Courvalin, 1997; Perichon y cols., 1997; Woodford y cols., 1995). En todas ellas, y según hemos visto, el fenotipo de resistencia se debe a la síntesis de un precursor distinto de la D-alanina-D-alanina, generalmente D-alanina-D-lactato, o bien, D-alanina-D-serina. Este mecanismo bioquímico de resistencia requiere un sofisticado mecanismo de regulación y expresión (Arthur y cols., 1996; Leclercq y Courvalin, 1997; Woodford y cols., 1995) que hace que cada uno de los fenotipos anteriores se pueda diferenciar según 3 factores: grado de resistencia a vancomicina y teicoplanina que confieren, mecanismo de expresión (inducible o constitutivo) y capacidad de transferencia de dicha resistencia (Chaves Sánchez y cols., 2008).

#### *Fenotipo VanA*

El fenotipo VanA se caracteriza por resistencia de alto grado a vancomicina (rango de CMI: 64-1024 µg/ml) y a teicoplanina (16-512 µg/ml) y por ser inducible por ambos glucopéptidos. Los genes responsables de este fenotipo se encuentran en el transposón *Tn1546*, que suele estar integrado en plásmidos autotransferibles. Este transposón está compuesto por nueve genes que codifican, respectivamente, nueve polipéptidos con diferente función, que participan, de forma compleja, en la expresión de la resistencia a los glucopéptidos. Hay genes con función de transposición (fragmentos ORF1 y ORF2); genes reguladores de aquellos que codifican la resistencia a los glucopéptidos (*vanS* y *vanR*); genes que participan en la producción de desipéptidos (*vanH*, *vanA* y *vanX*); y genes que dan lugar a proteínas accesorias implicadas en la síntesis del peptidoglucano, pero que no son necesarias

para la resistencia a los glucopéptidos (*vanY* y *vanZ*) (Arthur y cols., 1996; Walsh y cols., 1996).

Las proteínas VanH, VanA y VanX son esenciales para la resistencia. La primera, VanH, es una deshidrogenasa que cataliza la reducción de piruvato a D-lactato. La formación de un éster entre éste y la D-alanina es catalizada por la ligasa VanA. El dipéptido resultante, D-alanina-D-lactato reemplaza al dipéptido D-alanina-D-alanina en la vía de síntesis del peptidoglucano, y, con esta sustitución, se elimina la posibilidad de formar un puente de hidrógeno fundamental para la unión del glucopéptido al resto de D-alanina-D-alanina, con lo que el antibiótico no puede unirse a su diana. Por último, la proteína VanX tiene actividad D, D-dipeptidasa e hidroliza los dipéptidos de D-alanina-D-alanina que puedan haberse formado.

Las proteínas accesorias VanY y VanZ no son esenciales para la resistencia, pero su producción incrementa el grado de resistencia a vancomicina y teicoplanina, respectivamente. VanY es una D, D-carboxipeptidasa que hidroliza los residuos D-alanina terminales de los precursores del peptidoglucano que se producen cuando la eliminación de los dipéptidos D-alanina-D-alanina por VanX no ha sido completa. Por su parte, VanZ, participa en la resistencia por un mecanismo de momento desconocido.

La autofosforilación de un residuo de serina en VanS (como respuesta a un estímulo desconocido influido por la presencia de vancomicina) y la posterior transferencia del grupo fosfato a VanR, hacen que la forma fosforilada de VanR actúe como activador transcripcional de los genes *vanH-A-X*. La señal que reconoce a VanS es desconocida, pero se sospecha que la acumulación de precursores del



peptidoglucano pueda ser la causa del carácter inducible de la resistencia, mucho más que la interacción directa con el antibiótico.

#### *Fenotipo VanB*

El fenotipo VanB se define por resistencia de alto grado a vancomicina (rango de CMI: 4-1024 µg/ml); sin embargo, los aislados siguen siendo sensibles a teicoplanina (rango de CMI: 0,5-1 µg/ml). Esta resistencia sólo es inducible por vancomicina, no por teicoplanina.

También se asocia a transposones, y se han hallado plásmidos que contienen los genes de resistencia. La secuenciación de las zonas adyacentes a *vanB* parece indicar que existen genes con funcionalidad similar a *vanX*, *vanH*, *vanR* y *vanS*.

#### *Fenotipo VanC*

El fenotipo VanC se caracteriza por presentar una resistencia de bajo grado a vancomicina (rango de CMI: 2-32 µg/ml), permaneciendo sensible a teicoplanina (0,5-1 µg/ml); y está presente constitutivamente en las especies *E. gallinarum* (gen *vanC-1*), *E. casseliflavus* (gen *vanC-2*) y *E. flavescens* (*vanC-3*).

El gen *vanC*, causante de esta resistencia, es una ligasa cuya función es la formación del dipéptido D-alanina-D-serina, lo que conduce a una disminución de la afinidad por vancomicina.

#### *Fenotipo VanD*

Los aislamientos de enterococos con fenotipo VanD presentan un bajo grado de resistencia a vancomicina, con valores intermedios para teicoplanina. El gen

causante, *vanD*, codifica una D-alanina-D-lactato ligasa relacionada con los fenotipos VanA y VanB. La resistencia no es inducida y no se transfiere por conjugación (Leclercq y Courvalin, 1997; Perichon y cols., 1997).

En el caso de los enterococos, como hemos visto anteriormente, se produce una resistencia transferible a vancomicina y teicoplanina que fue descrita por primera vez en Europa en 1988 (Leclercq y cols., 1988; Uttley y cols., 1988). Rápidamente se constató que existía una amplia distribución geográfica, aislándose no sólo en muestras clínicas, sino también en las heces de individuos sanos y de animales de granja (McDonald y Jarvis, 1997; Woodford y cols., 1995). En estos últimos, la relación con el consumo de avoparcina (glucopéptido de uso veterinario), un aditivo alimentario que se usa como promotor del crecimiento animal, ha supuesto la constatación de la presión selectiva que ejercen los antibióticos en la selección y diseminación de los mecanismos de resistencia.

En Norteamérica el fenotipo predominante en *E. faecalis* es vanB (76,9%) mientras que en Europa predomina el vanA (85,7%). Esto significa que, en Europa, predomina la resistencia de alto nivel a vancomicina y teicoplanina entre los enterococos (Deshpande y cols., 2007). Además, en ambos continentes, esta resistencia a glucopéptidos se asocia a una elevada corresponsión frente a otros antibióticos.

En un reciente estudio realizado en nuestro país se cifra la tasa de resistencia de *E. faecalis* a vancomicina entorno al 0,4% (Oteo y cols., 2007). Mientras que en España y Europa las tasas de resistencia a glucopéptidos en aislados clínicos de enterococos se han mantenido muy bajas, no superando el 2% (Carmona y cols.,

2003), en Estados Unidos tienen una incidencia más elevada (17%), en especial en las unidades de cuidados intensivos y en las unidades hematológicas y renales de algunas instituciones, en las que alcanzan cifras entre el 10% y el 30% (CDC, 1993).

Por otro lado, se ha visto que en diferentes países han aparecido los llamados complejos clonales (CC) de alto riesgo en *E. faecalis*, de manera que los CC2 y CC9 incluyen cepas de origen hospitalario con resistencia a vancomicina y son causantes de brotes hospitalarios (Leavis y cols., 2006). En España se han detectado ambos complejos, pero existe un claro predominio de CC9 sobre CC2 (Ruiz-Garbajosa y cols., 2007). Se sabe que los CC evolucionan independientemente del ambiente, dependiendo de la disponibilidad genética y de la presión selectiva ejercida por la utilización de antibióticos, y que son difíciles de erradicar debido a su característica multirresistencia (Baquero y Campos, 2003).

Algunos de los factores de riesgo para la adquisición de enterococos resistentes a glucopéptidos son la administración previa de vancomicina (en particular cuando se emplea por vía oral como tratamiento de la colitis pseudomembranosa por *Clostridium difficile*), la estancia prolongada en el hospital y la utilización de antibióticos de amplio espectro, especialmente cefalosporinas por vía intravenosa (Chadwick y Oppenheim, 1997).

La utilización de vancomicina en el tratamiento de infecciones causadas por *S. agalactiae* se reserva fundamentalmente para los casos de pacientes que presentan alergia mayor a penicilinas (Simoes y cols., 2004). A nivel mundial, aún no se ha detectado ningún caso de resistencia a glucopéptidos en estreptococos del grupo B (Fernández y cols., 1998; Liddy y Holliman, 2002; Simoes y cols., 2004). De hecho,

en los diferentes estudios realizados se pone de manifiesto una sensibilidad del 100% a vancomicina en los aislados clínicos de esta bacteria, además de manifestarse que penicilina es más activa que vancomicina a la hora de tratar este tipo de infecciones. Por lo tanto, sería recomendable reservar este grupo de antibióticos para casos de resistencia a betalactámicos y/o pacientes alérgicos.

### **DAPTOMICINA**

Se trata de un derivado de los productos de fermentación de *Streptomyces roseosporus*. Pertenece a la familia de las lipopeptidolactonas. Fue descubierto a principios de los 80, pero vio suspendida su autorización debido a la toxicidad muscular que presentaba (Grau y cols., 2001). La estructura de daptomicina está formada por 13 aminoácidos, 10 de los cuales forman la estructura cíclica central y los 3 restantes constituyen una pequeña cadena peptídica lateral (Cottagnoud, 2008).

Su estructura confiere al antibiótico un mecanismo de acción diferente al de otros fármacos: se une a la membrana citoplasmática bacteriana por un mecanismo dependiente de calcio, sin penetrar en el interior de la célula, causando una rápida despolarización de ésta, con pérdida de su potencial, eliminación de potasio e inhibición de la síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos, lo que produce la muerte celular sin lisis bacteriana. Como consecuencia de este mecanismo de acción propio, no presenta resistencia cruzada con otros antibióticos (Silverman y cols., 2003).

Es activo frente a las bacterias en fase de crecimiento y en fase estacionaria, y posee un efecto bactericida frente a patógenos grampositivos, incluyendo microorganismos resistentes como *S. aureus* meticilin-resistentes (SARM), *S. aureus* con resistencia a vancomicina (VISA o VRSA), enterococos resistentes a

vancomicina, bacterias grampositivas con sensibilidad reducida a linezolid o quinupristina-dalfopristina, y estreptococos resistentes a penicilina o a macrólidos (Diederer y cols., 2006; Fluit y cols., 2004). También es activo frente a microorganismos anaerobios como *Clostridium* spp. y *Propionibacterium* spp., entre otros (Tyrrell y cols., 2006). Sin embargo, no es activo frente a bacterias gramnegativas, debido a su incapacidad para atravesar la membrana externa.

Su uso clínico fue aprobado en septiembre de 2003 por la Food and Drug Administration (FDA) en EEUU, y en enero de 2006, por la European Medicines Agency (EMA), en Europa, para el tratamiento de las infecciones complicadas de piel y tejidos blandos causadas por microorganismos grampositivos multirresistentes.

Diversos estudios indican que las CMI's actuales de daptomicina frente a los aislados SARM no superan los 0,5 ó 0,75 µg/ml (Denis y cols., 2006; Jorgen y cols., 2007). Sin embargo, algunos autores han demostrado que existe un incremento de los valores de CMI de daptomicina en aislados de *S. aureus* con sensibilidad reducida a glucopéptidos, en los que se alcanzan valores iguales o superiores a 2 µg/ml, pudiendo ser considerados como aislados con sensibilidad reducida a daptomicina según los actuales criterios (Cui y cols., 2006; Petersen y cols., 2002).

Sin embargo, en el caso de enterococos con fenotipos VanA o VanB se ha observado un ligero aumento de la CMI (incrementos de 1 µg/ml a 8 µg/ml), por lo que la FDA especifica que sólo está aprobado su uso en caso de *E. faecalis* sensibles a vancomicina (FDA, 2003), mientras que la Agencia Europea del Medicamento no hace referencia a este hecho (EMA, 2007).

En el caso de *S. agalactiae*, también daptomicina presenta una excelente actividad, con valores de CMI<sub>90</sub> alrededor de 0,25 µg/ml en diferentes estudios (Critchley y cols., 2003; Streit y cols., 2004).

El mecanismo de resistencia a daptomicina no está totalmente demostrado, pero existen diferentes hipótesis surgidas en los últimos años. Kaatz y cols. (2006) produjeron, *in vitro*, mutantes de *S. aureus* resistentes a daptomicina por pérdida de una proteína de membrana que posiblemente interaccionaba directamente con daptomicina. Otros investigadores han descrito aislados clínicos resistentes a daptomicina que presentaban mutaciones puntuales en el gen *mprF* y la inserción de un nucleótido en el gen *yycF*. Estos genes codifican, respectivamente, una enzima lisilfosfatidilglicerol-sintetasa (implicada en la regulación de la carga superficial de la membrana celular) y una histidina-sintetasa (implicada en la síntesis de ácidos grasos de membrana), de manera que, la despolarización causada por daptomicina y que causa la muerte en las bacterias, no se produce en este tipo de aislados (Friedman y cols., 2006; Jones y cols., 2008).

La incidencia real de resistencia a daptomicina en cocos grampositivos es todavía muy baja. Así, en un estudio europeo multicéntrico, sólo se encontraron 2 aislados con sensibilidad disminuida a daptomicina (CMI = 2 µg/ml) de entre 4842 aislados de *S. aureus*, y ninguno de 660 aislados de *S. agalactiae* (CMI<sub>90</sub> = 0,25 µg/ml) (Sader y cols., 2006). Resultados similares se han encontrado en estudios americanos (Pfaller y cols., 2007; Rouse y cols., 2007)

Jones y cols. (2008) han puesto de manifiesto que el mecanismo de resistencia a daptomicina incluye varios procesos relacionados y que, si se produce alguno de los anteriores de manera aislada, da lugar a una disminución de la

sensibilidad, pero es necesaria la adquisición de todos los mecanismos de resistencia (reducción de la despolarización, engrosamiento de la membrana e incremento en la carga positiva de la superficie de la membrana) para que se obtengan aislados claramente resistentes a daptomicina.

Con todo, lo más preocupante es la posibilidad de aparición de resistencia cruzada entre vancomicina y daptomicina, dando lugar a aislados resistentes a daptomicina por engrosamiento de la membrana (Cui y cols., 2003; Jones y cols., 2008; Patel y cols., 2006).

## **AMINOGLUCÓSIDOS**

Los aminoglucósidos son antibióticos naturales o semisintéticos, de estructura heterocíclica, que actúan inhibiendo la síntesis proteica (Williams, 1996b). Contienen uno o varios aminoazúcares unidos mediante enlaces glucosídicos con un aminociclitol (alcohol cíclico con grupos amino). El primero de ellos fue estreptomina, que se aisló a partir de *Streptomyces griseus* y, posteriormente, a partir de esta molécula, se desarrollaron el resto de aminoglucósidos semisintéticos (Schatz y cols., 1944).

Los aminoglucósidos pueden clasificarse según su estructura química en: aminoglucósidos con aminociclitol (dactinomicina, estreptomina, kanamicina A, tobramicina, amikacina, dibekacina, arbekacina, astromicina, apramicina, butirosina, ribostamicina, isepamicina, gentamicina, sisomicina, netilmicina, neomicina y paromomicina) y aminociclitoles (espectinomicina y trospectinomicina).

Los aminoglucósidos-aminociclitolos poseen actividad bactericida, mientras que los aminociclitolos sólo poseen actividad bacteriostática (Gómez-Lus y cols., 2006).

Para ejercer su acción es necesario que las bacterias se encuentren en fase de crecimiento, es decir, necesitan que la bacteria se encuentre en una fase de síntesis activa de proteínas, puesto que actúan a ese nivel. Además, es necesario que accedan al citoplasma bacteriano y alcancen los ribosomas. Lo consiguen gracias a un proceso de difusión activa para el que es necesario condiciones de aerobiosis, ya que, en anaerobiosis, no se puede crear el potencial de óxido-reducción necesario para proporcionar energía al proceso. Por otro lado, una concentración inadecuada de cationes divalentes ( $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^{2+}$ ), la hiperosmolaridad y el pH ácido, inhiben su paso a través de la membrana celular, reduciendo la acción bactericida de éstos antibióticos.

Una vez en el interior de la bacteria, los aminoglucósidos inhiben la síntesis de proteínas. Los que tienen estreptidina como aminociclitol en su estructura (caso de estreptomicina) interactúan sólo con la unidad 30S del ribosoma bacteriano, uniéndose a la proteína 12S. El resto, que contienen la 2-desoxi-estreptamina, se unen a las subunidades 50S y 30S en sitios distintos a la estreptomicina, no compitiendo con ella. Finalmente, los aminoglucósidos detienen la lectura del mensaje genético e inducen una falsa lectura del ARNm, lo que se traduce en la producción de proteínas no funcionales. Algunas de estas proteínas anómalas se integran en la membrana celular causando inestabilidad y provocando la apertura de canales acuosos que permiten la entrada de más moléculas de aminoglucósidos. Por esta razón, la actividad bactericida de estos antibióticos depende de la concentración;



así, a mayor concentración, más rápidamente se produce la muerte de la bacteria (Gómez-Lus y cols., 2006).

Espectinomicina se une a una proteína distinta, la proteína 4S de la subunidad 30S del ribosoma, y, a diferencia del resto de los aminoglucósidos, no causa falsa lectura en la síntesis proteica de la bacteria (Gómez-Lus y cols., 2006).

Todos estos procesos no son suficientes para explicar la acción bactericida de los aminoglucósidos, sobre todo si se tiene en cuenta que otros antibióticos que inhiben la síntesis proteica sólo muestran acción bacteriostática. Por ello, se han propuesto otros mecanismos simultáneos: alteraciones en la membrana citoplasmática con salida de elementos intracelulares y alteraciones en el metabolismo y la respiración celular (Davies, 1980; Davis, 1987).

Los aminoglucósidos presentan cierta limitación de acción frente a los cocos grampositivos, exceptuando a *Staphylococcus* spp. En los enterococos, la pared se comporta como una barrera difícil de atravesar por los aminoglucósidos (figura 3), por lo que la asociación con inhibidores de la síntesis de la pared celular, como betalactámicos o glucopéptidos, produce un efecto sinérgico, al aumentar, de forma notable, la concentración intracelular del aminoglucósido. Los estreptococos suelen ser resistentes a uno o varios aminoglucósidos.

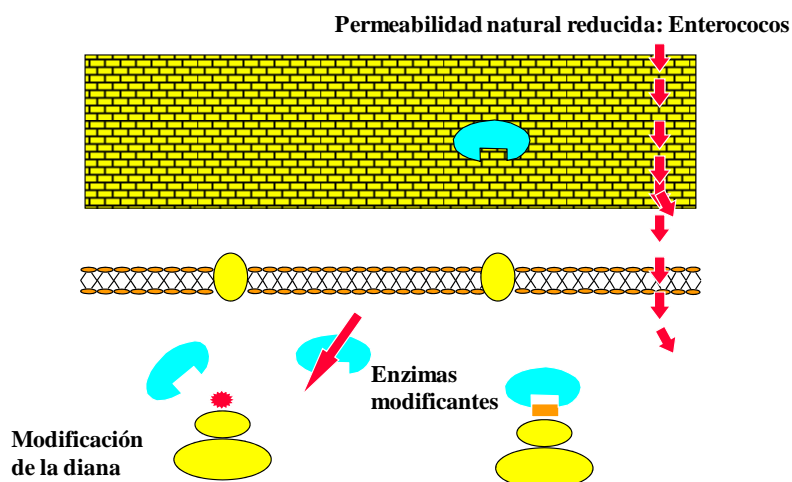
### **Mecanismos de resistencia**

Frente a estos antibióticos, las bacterias pueden desarrollar diferentes estrategias, como modificar la unión en la fracción ribosomal 30S, lo que representa una posibilidad poco frecuente de resistencia; poseer bombas de eflujo que expulsan el antibiótico fuera de la bacteria; o, la más importante, modificar el antibiótico fuera

de la bacteria y de esta forma, ya modificado, difícilmente es capturado por la bacteria.

La producción de enzimas modificantes (figura 3), por acetilación de los radicales amino, o por fosforilación o adenilación de los grupos hidroxilo, representa la forma más común de resistencia a este grupo de fármacos. Estas enzimas, habitualmente, están codificadas por genes que residen en elementos genéticos con gran capacidad de conjugación, como plásmidos y transposones. Su facilidad para moverse en distintos replicones, algunos de ellos en numerosos hospedadores, ha permitido la rápida diseminación de estos genes de resistencia entre las bacterias. Sin embargo, en algunas ocasiones se han identificado en el cromosoma bacteriano, como es el caso de *S. agalactiae* (Horaud y cols., 1996). Bajo estas circunstancias, se asocian a posibles funciones metabólicas, siendo los aminoglucósidos sustratos accidentales de estas enzimas (Davies y Wright, 1997). Los estudios sobre su expresión en diferentes microorganismos, en presencia y ausencia de antibióticos, sugieren que la mayoría de estos genes se expresan constitutivamente.

**Figura 3:** Resistencia a aminoglucósidos en cocos grampositivos



Como hemos comentado, las enzimas modificantes pueden ser acetiltransferasas (AAC), que acetilan grupos amino del aminoglucósido en un proceso dependiente de la acetil-CoA; nucleotidil o adeniltransferasas (ANT), que transfieren un nucleótido monofosfato desde un nucleótido trifosfato a un grupo hidroxilo del antibiótico, en un proceso dependiente de ATP; y fosfotransferasas (APH), que fosforilan grupos hidroxilo en un proceso dependiente de ATP (Davies, 1980; Shaw y cols., 1993).

Además, existe una enzima bifuncional resultante de la fusión de una N-acetiltransferasa y una O-fosfotransferasa. Es la enzima APH (2'')-AAC (6'), ampliamente distribuida entre las bacterias de los géneros *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. y *Streptococcus* spp. Esta combinación protege eficazmente a las cepas que la producen contra todos los aminoglucósidos actualmente disponibles, a excepción de estreptomicina y espectinomicina.

La resistencia a estreptomicina se produce fundamentalmente por el cambio de uno o dos aminoácidos en la proteína diana 12S (figura 3), por tanto, es una resistencia de un solo escalón y de alto grado (Gómez-Lus y cols., 2006). Este tipo de resistencia se ha detectado en aislados de *E. faecalis*.

El origen de los genes que codifican las enzimas modificantes de aminoglucósidos ha sido ampliamente debatido (Davies, 1997; Shaw y cols., 1993). La hipótesis más barajada indica que podrían proceder de organismos productores de aminoglucósidos, como un mecanismo de autoprotección contra el antibiótico producido. Por un lado, existe la hipótesis de que estos genes proceden de organismos como los actinomicetos, y por otro, está la que sugiere que son

mutaciones producidas en diferentes enzimas propias del metabolismo de la bacteria (Cantón y cols., 1999).

### **Evolución de la resistencia**

Los aminoglucósidos son un grupo de antibióticos imprescindibles en terapias combinadas en el ámbito hospitalario. Los estudios sobre resistencia a los aminoglucósidos llevados a cabo antes de la década de 1980, revelaron que la mayoría de los aislamientos estudiados contenían una única enzima modificante de aminoglucósidos, mientras que análisis más recientes demuestran que los aislamientos resistentes lo son por combinaciones de varias enzimas y que, incluso, existen cepas hasta con seis enzimas diferentes. Además, los aislamientos resistentes a los aminoglucósidos lo suelen ser también a otros grupos de antibióticos.

En este sentido, ya hemos comentado que, en *S. aureus* resistente a meticilina, el gen *mecA*, que le confiere esta resistencia, está casi siempre asociado con genes de resistencia a aminoglucósidos (Lyon y Skurray, 1987), probablemente como resultado de la constante presión antibiótica selectiva, más que por procesos de recombinación específica. En *S. aureus* la enzima más importante es la enzima bifuncional APH (2'')-AAC (6') (Davies, 1980; Lyon y Skurray, 1987), muchas veces asociada a la nucleotidiltransferasa ANT (4')(4''). Otras enzimas descritas en esta especie son fosforilasas APH (3''), APH (3')-III y APH (2'') y nucleotidiltransferasas ANT (9), ANT (3'')(9) y ANT (6').

En cuanto a la prevalencia europea de resistencia a gentamicina en *S. aureus*, podemos decir que durante la década de los 90 se experimentó un incremento de un 10%, de forma que, a finales de la década, la resistencia de alto nivel a gentamicina y

a estreptomicina se situó en 0,2% y 2,7%, respectivamente, para SASM, mientras que fue de 1,2% y 57,3%, respectivamente, en el caso de SARM (Schmitz y cols., 1999). Las razones de este aumento no están claras, pero parece relacionarse con cambios en los patrones de prescripción antibiótica que producen una presión selectiva sobre gentamicina. Además, en este estudio, se pone de manifiesto que España es uno de los países europeos con mayor prevalencia de microorganismos resistentes a aminoglucósidos. Posteriormente, en el estudio español VIRA de 2006 se vio que la resistencia a gentamicina de SARM ha disminuido con respecto a estudios anteriores realizados en 2001 y 2004, de manera que la resistencia actual se sitúa en 18,5%, mientras que antes era de 30% y 33%, respectivamente (Picazo y cols., 2006).

Como se dijo antes, el género *Enterococcus* spp. es intrínsecamente resistente a los aminoglucósidos (Davies, 1980; Davies, 1997). La resistencia es de bajo grado, al no poder penetrar el antibiótico adecuadamente en el interior de la bacteria. Cuando se combinan altas dosis de aminoglucósidos con antibióticos inhibidores de la síntesis de la pared celular se produce un efecto sinérgico (probablemente porque los aminoglucósidos consiguen entrar en mayor cantidad al interior de la bacteria). Este efecto sinérgico queda anulado cuando la resistencia es de alto grado, debida, en este caso, a la presencia de enzimas modificantes de aminoglucósidos. Habitualmente, los aminoglucósidos que suelen combinarse con los inhibidores de la pared son la estreptomicina y la gentamicina.

En *E. faecalis* la resistencia a gentamicina se acompaña siempre de resistencia al resto de los aminoglucósidos, excepto a espectinomicina, y suele

deberse a la síntesis de la enzima bifuncional APH (2'')-AAC (6'). Las cepas sensibles a gentamicina, sin embargo, pueden ser resistentes a amikacina por la síntesis de las enzimas APH (3')-III (que no modifica a tobramicina) y ANT (4') (que sí modifica a tobramicina). La afinidad de estas enzimas por amikacina es generalmente baja, y el grado de afectación no es elevado, aunque con independencia de ello, no se produce sinergia con los betalactámicos. Por el contrario, la afectación de kanamicina es clara, por lo que se ha propuesto el estudio de este aminoglucósido en *E. faecalis* para predecir la resistencia a amikacina. Por su parte, estreptomicina se modifica por la enzima ANT (6') o por mutaciones específicas de ésta.

En cuanto a la prevalencia europea de *E. faecalis* con resistencia de alto nivel a gentamicina y a estreptomicina, a finales de la década de los 90, se situó en un 32% y un 41%, respectivamente (Schmitz y cols., 1999). En el caso de *E. faecalis* resistente a vancomicina, la resistencia a gentamicina se hace mayor, de hasta un 85,7% en Europa, frente a un 62,5% en el caso de Estados Unidos (Deshpande y cols., 2007).

Si hablamos de *S. agalactiae*, la resistencia de alto nivel a este grupo de antibióticos se debe también a la síntesis de enzimas modificantes del fármaco. La primera cepa de esta bacteria con resistencia de alto nivel a gentamicina fue aislada en Francia en 1987 de la herida cutánea de una persona adulta, y es conocida como cepa B128 (Buu-Hoï y cols., 1990). La resistencia a aminoglucósidos se relaciona con la adquisición del transposón *Tn3706* que se ha anclado al cromosoma y que presenta similitudes con los transposones de *E. faecalis* (*Tn5281*) y *S. aureus* (*Tn4001*), pero que no pueden considerarse idénticos (Heraud y cols., 1996).

La principal causante de la resistencia a aminoglucósidos es la ya citada enzima bifuncional APH (2'')-AAC (6'). Además, codifican otras enzimas modificantes como APH (3') y una adeniltransferasa que modifica, específicamente, a estreptomicina. Como está descrito anteriormente, la codificación de estas enzimas por parte de la bacteria le confiere resistencia a todos los aminoglucósidos, a excepción de espectinomicina (Buu-Hoï y cols., 1990).

## **QUINOLONAS**

Las quinolonas, junto con los betalactámicos, son los antibióticos que más se prescriben actualmente (Gobernado y cols., 2006). Estos antibióticos fueron sintetizados a partir de las quininas antimaláricas en la década de los 60 y la primera quinolona del grupo fue el ácido nalidíxico (Lesher y cols., 1962). Los derivados fluorados (fluorquinolonas) por adición de un átomo de flúor en la posición 6 del anillo base, tales como ciprofloxacino, norfloxacino y ofloxacino, aparecieron posteriormente, en los 80 y se caracterizaron por mejorar la farmacocinética y el espectro de actividad (Ito y cols., 1980). Estas primeras fluorquinolonas han sido la base para el desarrollo posterior de otras moléculas.

Las quinolonas presentan una estructura bicíclica común (4-oxo-1,4-dihidroquinoleína o 4-quinolona). Para que este núcleo bicíclico presente actividad es necesario que el nitrógeno de la posición 1 posea una cadena lineal o cíclica (Albrecht, 1997), además, los radicales unidos en esta posición van a determinar la estabilidad de la molécula y su potencia antibacteriana.

Normalmente, las quinolonas se clasifican según su evolución histórica en generaciones, como vemos en la tabla 2.

**Tabla 2.** Clasificación de las quinolonas

<b>1ª Generación</b>	Ácido nalidíxico, Cinoxacino, Ácido pipemídico, Flumequina.
<b>2ª Generación</b>	Lomefloxacino, Enoxacino, Ofloxacino.
<b>3ª Generación</b>	Ciprofloxacino, Pefloxacino, Levofloxacino, Esparfloxacino, Gatifloxacino, Grepafloxacino.
<b>4ª Generación</b>	Moxifloxacino, Trovafloxacino, Gemifloxacino, Sitafloxacino, Clinafloxacino
<b>5ª Generación</b>	Garenofloxacino, DX-619, WCK-771, WCK-1153, DW-286.

El mecanismo de acción de las quinolonas consiste en inhibir la acción de la ADN girasa bacteriana o topoisomerasa II y también de la topoisomerasa IV. En el caso de las bacterias grampositivas, estos antibióticos acceden al interior de la bacteria mediante difusión simple a través de la pared, mientras que en el caso de microorganismos gramnegativos utilizan las porinas. Una vez dentro de la bacteria, el paso más importante es la unión al complejo ADN-girasa que contiene ADN roto y que es el encargado de preparar el ADN para la transcripción, proceso al cual inhiben (Gobernado y cols., 2006). La girasa tiene una estructura tetramérica con dos subunidades A y dos subunidades B que se sintetizan, respectivamente, por los genes cromosómicos *gyrA* y *gyrB* (Hooper y Wolfson, 1993). Las quinolonas también ejercen su acción, aunque a mayores concentraciones, sobre la topoisomerasa IV. Esta enzima está igualmente constituida por dos subunidades codificadas por genes cromosómicos, *parC* y *parE*, que presentan una homología en las secuencias de aminoácidos del 35% con *gyrA* y del 40% con *gyrB*, respectivamente. Una vez inhibida la replicación, la bacteria libera exonucleasas que producen la apoptosis celular (Reece y Maxwell, 1991; Shen y cols., 1989), por lo tanto, puede decirse que tienen actividad bactericida.



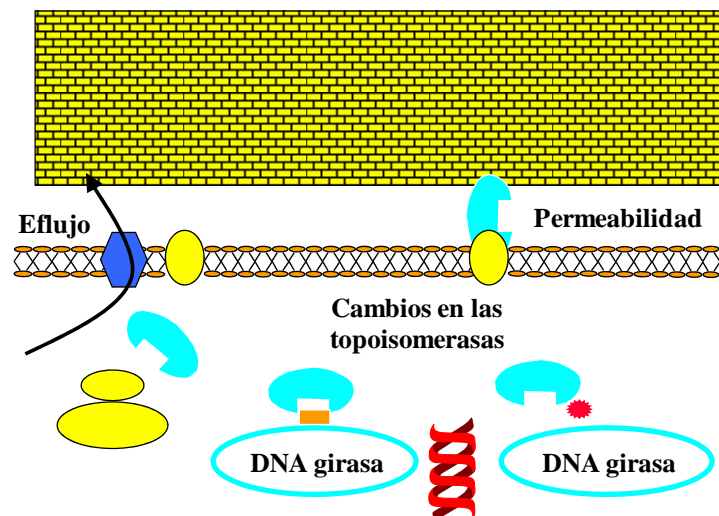
Las quinolonas de 1ª generación no tienen actividad frente a los microorganismos grampositivos, pero sí las demás generaciones. Las fluorquinolonas de 5ª generación poseen incluso actividad frente a *S. aureus* resistente a quinolonas de generaciones anteriores (Gobernado y cols., 2006).

### **Mecanismos de resistencia**

Las primeras quinolonas presentaban una CMI baja, del orden de 0,01 µg/ml, para la mayoría de patógenos gramnegativos. Sin embargo, sus CMIs para bacterias grampositivas eran relativamente altas (0,25 a 2 µg/ml para estafilococos y estreptococos) (Dholakia y cols., 1994) y estaban muy cerca de las concentraciones terapéuticas en humanos (Borner y cols., 1986). Al usar estos antibióticos tan cerca de la barrera entre actividad y resistencia frente a bacterias problemáticas como los patógenos grampositivos, tipo SARM, por ejemplo, facilitaban la selección de cepas resistentes.

La adquisición de resistencia a quinolonas puede producirse por diferentes mecanismos: por modificación enzimática de las subunidades de la girasa o de la topoisomerasa IV, por alteración de la permeabilidad de la pared celular o por aumento de la expulsión del antibiótico al exterior mediante bombas de eflujo (figura 4). Estos mecanismos pueden coexistir en la misma bacteria (Gobernado y cols., 2006).

Figura 4: Resistencia a quinolonas en cocos grampositivos



De todos, el principal mecanismo de resistencia a quinolonas resulta de mutaciones en el cromosoma bacteriano. Es consecuencia de dos tipos de acciones que incluyen sobreexpresión de bombas de eflujo *NorA* (Yoshida y cols., 1990) y, fundamentalmente, mutaciones estructurales en los genes de la topoisomerasa II (*gyrA* y *gyrB*) y la topoisomerasa IV (*parC* y *parE*) (Fournier y Hooper, 1998).

La resistencia a quinolonas se adquiere paulatinamente. En grampositivos, las mutaciones ocurren más a menudo en la topoisomerasa IV que en la ADN-girasa (Schmitz y cols., 2002). En un primer paso se produce una mutación en *parC* (frecuencia de aparición de  $10^{-7}$  a  $10^{-8}$ ), la cual produce un aumento moderado de la CMI (por ejemplo, de 0,5 a 2  $\mu\text{g/ml}$  para ciprofloxacino) y todavía podría considerarse la cepa en el rango sensible. Sin embargo, esta primera mutación puede seguirse de una segunda mutación en el gen *gyrA*, que, en combinación con la anterior, da lugar a un alto nivel de resistencia. Debido a que la primera mutación hace peligrar la eficacia de las quinolonas, es crucial evitar seleccionarla en primer

lugar. Por lo tanto, es importante detectar ese primer nivel de resistencia a quinolonas en el diagnóstico de laboratorio antes de intentar el tratamiento con estos antibióticos.

Las primeras generaciones de quinolonas seleccionan, claramente, estas mutaciones, seleccionando rápidamente organismos resistentes tan solo tras pocas series de exposiciones al antibiótico (Entenza y cols., 1997). Las quinolonas posteriores, con actividad anti-grampositivos (levofloxacino, moxifloxacino, gatifloxacino y garenoxacino) son menos selectivas de mutantes. Sin embargo, aún poseen el riesgo de seleccionar, de manera particular, a las bacterias que ya han adquirido el primer grado de resistencia a ciprofloxacino (mutantes en *parC*).

La proteína NorA es el transportador identificado en *S. aureus*. Es de codificación cromosómica, si bien se ha encontrado asociada a plásmidos (Yoshida y cols., 1990) y puede expresarse tanto de forma constitutiva, como inducible (Schmitz y cols., 2002). Este mecanismo de expulsión activa está ligado a los genes reguladores de multiresistencia (*marA*) y de multifujo (*mex*) (Levy, 1992; Muñoz-Bellido y cols., 1999). Además, es conocido que estas bombas de eflujo pueden aparecer incluso sin existir mutaciones en los genes habituales que codifican resistencia a quinolonas (genes de las topoisomerasas), y dan lugar a una resistencia de bajo nivel. Las nuevas fluorquinolonas, de última generación, presentan, como característica, la capacidad de afectarse en menor medida por las bombas de eflujo (Muñoz-Bellido y cols., 1999).

Por último, estudios bioquímicos con m-cloro-carbonil-ciano-fenil hidrazona (CCCP), inhibidor de la bomba de protones (Cohen y cols., 1988), sugieren que las quinolonas pueden ser expelidas mediante procesos de eflujo tanto en gramnegativos como en grampositivos.

### **Evolución de la resistencia**

Existe una relación inversa entre la aparición de resistencia a quinolonas y su concentración plasmática, por lo cual no deben infradosificarse, ya que se corre el riesgo de que aparezcan fácilmente mutantes resistentes (Thomas y cols., 1998). En general, se sabe que, cuanta mayor actividad presenta la quinolona, más tiempo tarda en aparecer la resistencia (Alós, 2003).

La prevalencia de la resistencia hospitalaria a quinolonas (ciprofloxacino en concreto) en aislados SARM es, actualmente, cercana al 90%, haciendo inapropiado su uso frente a estos aislados, incluidas las nuevas quinolonas (Cuevas y cols., 2004).

En el estudio SENTRY realizado sobre *E. faecalis* resistentes a vancomicina en diferentes continentes, se observó una tasa de resistencia adicional a quinolonas (ciprofloxacino) del 100% en el caso de Estados Unidos, mientras que en Europa era algo inferior, concretamente del 85,7% (Deshpande y cols., 2007).

Por su parte, los primeros aislados de *S. agalactiae* altamente resistentes a fluorquinolonas se caracterizaron por primera vez en Japón en el año 2003 (Kawamura y cols., 2003). Estos aislados mostraron resistencia únicamente a fluorquinolonas, mientras que fueron sensibles al resto de antibióticos.

Posteriormente, en un estudio norteamericano, que comprendió el periodo desde 1999 hasta 2002, se observó una prevalencia de resistencia a fluorquinolonas del 4,4% (Wehbeh y cols., 2005). En este caso, los pacientes portadores de estas cepas resistentes tenían en común el sexo femenino, diferentes comorbilidades y

haber sido previamente tratadas con quinolonas, estableciéndose que un factor determinante en este tipo de resistencia es el consumo previo de antibióticos.

Por último, la tasa de prevalencia de *S. agalactiae* resistente a quinolonas en España es inferior a la de Estados Unidos (1,2%), aislándose por primera vez este tipo de cepas en el año 2003 (Miró y cols., 2006).

En los tres estudios citados se pone de manifiesto que la resistencia es debida a mutaciones puntuales en los genes *gyrA* y *parC*.

### **MACRÓLIDOS, LINCOSAMIDAS Y ESTREPTOGRAMINAS**

A pesar de presentar diferencias estructurales, los macrólidos, lincosamidas y estreptograminas, comparten un mismo mecanismo de acción, su espectro de actividad es muy cercano y se afectan por mecanismos de resistencia comunes. Son antibióticos ampliamente utilizados en el tratamiento de infecciones de origen comunitario y su uso masivo ha incidido, negativamente, en el desarrollo de resistencias.

Eritromicina fue el primer macrólido del grupo aislado con actividad antibiótica y se descubrió en la década de los 50. Se aisló a partir de un cultivo de *Streptomyces erythreus*, y a partir de esta molécula comenzaron a desarrollarse el resto de componentes del grupo. Sin embargo, eritromicina sigue siendo la molécula de referencia, puesto que el resto, aunque presentan una mejor farmacocinética, se caracterizan por presentar menor eficacia antimicrobiana (Sevillano y cols., 2006).

Los macrólidos son compuestos fundamentalmente liposolubles, que poseen un anillo lactónico macrocíclico al que se encuentran unidos uno o varios desoxiazúcares o aminoazúcares (Fernandes y Garmaise, 1987).

Se clasifican, respecto a la estructura química, según el número de átomos que forman parte del anillo principal, como indica la tabla 3.

**Tabla 3:** Clasificación de los macrólidos

<b>ANILLO DE 14 ÁTOMOS</b>	Eritromicina, Claritromicina, Roxitromicina, Diritromicina
<b>ANILLO DE 15 ÁTOMOS</b>	Azitromicina
<b>ANILLO DE 16 ÁTOMOS</b>	Josamicina, Midecamicina, Rokitamicina, Espiramicina

Las lincosamidas presentan propiedades similares a los macrólidos. Su estructura está formada por un aminoácido y un azúcar unidos mediante un enlace amida. Su principal representante es clindamicina, que es un compuesto semisintético con actividad mejorada y mejor biodisponibilidad oral, obtenido a partir de la lincomicina, primera lincosamida aislada (de la Rosa y cols., 2006).

En cuanto a las estreptograminas, su principal representante es la combinación de una estreptogramina B (quinupristina) y una estreptogramina A (dalfopristina) en una proporción 30:70.

Todos estos antibióticos actúan inhibiendo la síntesis proteica al unirse de manera irreversible a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano. Bloquean la transpeptidación y, probablemente, la translocación (Mazzei y cols., 1993; Williams, 1996b). Podrían considerarse antibióticos bacteriostáticos, aunque se ha visto que pueden comportarse como bactericidas, dependiendo de las características del microorganismo, de las concentraciones administradas y del tiempo de exposición. Esto puede deberse a la mediación de autolisinas o al acúmulo de aminoacil-ARN dentro de la bacteria (Sevillano y cols., 2006).

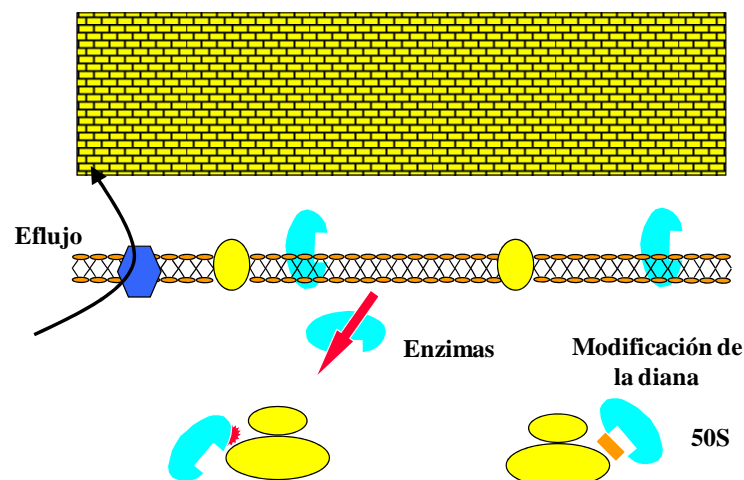
Los macrólidos tienen buena actividad frente a cocos grampositivos, exceptuando estafilococos resistentes a meticilina, ya que suelen asociar resistencia, y enterococos. Además, tienen actividad frente a bacilos grampositivos, cocos gramnegativos, e, incluso, protozoos. Dentro del grupo, cabe destacar que claritromicina posee mayor actividad frente a los cocos grampositivos que eritromicina (Sevillano y cols., 2006).

Clindamicina posee un espectro similar a macrólidos, aunque es poco o nada activa frente a enterococos (de la Rosa y cols., 2006). El espectro de actividad de quinupristina-dalfopristina lo analizaremos más adelante.

### Mecanismos de resistencia

Los mecanismos de resistencia a este grupo son comunes y se producen por uno de los tres mecanismos clásicos (Leclercq y Courvalin, 1991a; Weisblum, 1995): modificación de la diana bacteriana, disminución de la acumulación intracelular del fármaco y modificación o inactivación del propio antibiótico (figura 5).

**Figura 5:** Resistencia  $MLS_B$  en cocos grampositivos



*Modificación ribosomal*

Este mecanismo, junto con la presencia de bombas de eflujo, son los mecanismos de resistencia más frecuentes en *S. aureus* y en enterococos (Leclercq y Courvalin, 1991b; Torres, 2002). La alteración del ribosoma más importante está mediada por el gen *erm*, que codifica la enzima metilasa, la cual añade uno o dos grupos metilo al sitio de unión de los macrólidos (subunidad 23S del ARNr). Esta metilación disminuye enormemente la afinidad de estos antibióticos por su diana. Los determinantes *erm* pertenecen a una familia de genes para metilasas localizados preferentemente en elementos móviles como transposones o plásmidos.

La presencia de genes *erm* generalmente confiere un fenotipo de resistencia denominado MLS<sub>B</sub> (resistencia a macrólidos de 14, 15 y 16 átomos, lincosamidas y estreptograminas del grupo B) y este fenotipo puede ser de expresión constitutiva o inducible (cMLS<sub>B</sub> o iMLS<sub>B</sub>). En las cepas con fenotipo iMLS<sub>B</sub> la eritromicina induce la expresión del mecanismo de resistencia. Por ello si se estudia la sensibilidad de estas cepas a macrólidos de 16 átomos, clindamicina y estreptograminas del grupo B en ausencia de eritromicina, se manifestarán como sensibles a estos antibióticos, pero algunos autores consideran que deberían informarse como resistentes porque poseen el mecanismo de resistencia. El fenotipo de resistencia a macrólidos más frecuente en *Staphylococcus* spp. es el iMLS<sub>B</sub> (Torres, 2002).

La mayoría de estudios se han realizado en *S. aureus* y en ellos se estima que la resistencia a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas, por producción de metilasa, se acerca al 20% de los aislamientos (Cantón y cols., 1999).



*Bombas de eflujo*

Las bombas de eflujo producen un incremento del proceso de expulsión del antimicrobiano. Han sido descritas tanto en estafilococos como en estreptococos (Clancy y cols., 1997; Ross y cols., 1995). *S. aureus* puede contener el complejo *msrA*, que confiere resistencia a macrólidos y estreptograminas B (fenotipo MS<sub>B</sub>). Estos transportadores utilizan la hidrólisis de ATP como fuente de energía del eflujo activo. El *msrA* está localizado en un plásmido y puede ser transferido a *S. aureus* aunque la relevancia clínica en cuanto a la resistencia a este grupo de antibióticos es incierta. Hay que destacar que las lincosamidas no son dianas de las bombas de eflujo, por lo que clindamicina no se ve afectada por este mecanismo de resistencia (Roberts y cols., 1999).

*Modificación o inactivación del antibiótico*

Las enzimas modificantes se han identificado en multitud de bacterias, entre ellas los estafilococos. Afectan de diferente forma a los distintos tipos de antibióticos incluidos en este grupo. El anillo de lactona presente en los macrólidos de 14 átomos puede ser inactivado por estererasas, glucosilasas o fosfotransferasas. Clindamicina se modifica por nucleotidiltransferasas, mientras que las estreptograminas A y B lo hacen por acetiltransferasas e hidrolasas, respectivamente. Con frecuencia sus determinantes genéticos se localizan en plásmidos, aunque no siempre son conjugativos (Roberts y cols., 1999).

### **Evolución de la resistencia**

En un estudio español sobre la prevalencia de resistencia a macrólidos en *S. aureus* se obtuvo una tasa de resistencia a eritromicina del 14,2%, mientras que la de clindamicina fue menor, del 1,8% (Merino-Díaz y cols., 2007). El fenotipo más frecuentemente aislado fue MS<sub>B</sub> en el caso de SARM (1% y todos portaban el gen *msrA*); sin embargo en el caso de cepas sensibles a meticilina, el fenotipo principal fue iMLS<sub>B</sub> (siendo el gen más aislado *ermC*).

*E. faecalis* presenta resistencia a macrólidos a través de la adquisición de un plásmido que codifica los genes *erm* de metilasas modificadoras del ribosoma (Sevillano y cols., 2006). También se sabe que esta bacteria es intrínsecamente resistente a lincosamidas y estreptogramina A, es lo que se conoce como fenotipo LSA. Esta resistencia está relacionada con la expresión del gen cromosómico *lsa*, y la proteína codificada por dicho gen presenta similitudes con la familia de bombas de eflujo ABC, que transportan al exterior antibióticos mediante un proceso dependiente de ATP (Dina y cols., 2003).

En el caso de *S. agalactiae*, el empleo de macrólidos se realiza, fundamentalmente, en el caso de pacientes con alergia a betalactámicos y se recomienda emplear clindamicina (Pearlman y cols., 1998; CDC, 2002) en lugar de eritromicina, puesto que el porcentaje de cepas resistentes es menor.

Existen evidencias de que la resistencia a eritromicina está en torno al 25% en el caso de Estados Unidos, mientras que la resistencia a clindamicina es menor, alrededor del 7% (Andrews y cols., 2000; Simoes y cols., 2004). En Latinoamérica,

un estudio del año 2007, describe cepas de *S. agalactiae* resistentes a eritromicina en Argentina (5,2%) (Mollerach y cols., 2007).

En nuestro país la tasa de resistencia de *S. agalactiae* a eritromicina es del 15% (Betriú y cols., 2000). En este estudio, entre todos los aislados resistentes observaron que el 66,6% presentaban el fenotipo cMLS<sub>B</sub> frente al 21,7% que lo presentaba inducible. En un estudio multicéntrico y español realizado posteriormente (González y cols., 2004), se vio que *S. agalactiae* era siempre sensible a penicilina, ampicilina, vancomicina y levofloxacino, mientras que la resistencia a eritromicina y azitromicina alcanza unos valores del 12,5%, la resistencia a clindamicina se sitúa en el 11,8% y a telitromicina ha alcanzado el 1,8%.

#### **QUINUPRISTINA-DALFOPRISTINA**

Quinupristina-dalfopristina está constituido por dos moléculas, una estreptogramina del grupo B, la primera, y una estreptogramina del grupo A, la segunda, que actúan sinérgicamente, y son activas frente a *S. aureus*, tanto sensibles como resistentes al grupo MLS<sub>B</sub>, y frente a *S. agalactiae* con fenotipo de resistencia MLS<sub>B</sub> (Cormican y Jones, 1996). La combinación tiene una elevada acción bactericida frente a aislados sensibles a macrólidos, lincosamidas y estreptograminas B, pero tiende a ser menos bactericida en el caso de bacterias resistentes, lo cual sucede prácticamente en más del 90% de los aislados de SARM hospitalarios. Sería necesario administrar grandes cantidades del compuesto (7,5 mg/kg cada 8 horas) para asegurar la eficacia frente a tales organismos. Datos experimentales indican que, combinando quinupristina-dalfopristina con un betalactámico, aumenta su actividad

frente a SARM, incluso si el betalactámico es inactivo por sí mismo (Vouillamoz y cols., 2000). Esta estrategia necesita más estudios clínicos para poder ser confirmada.

Volviendo a hacer referencia al estudio VIRA 2006 realizado en España (Picazo y cols., 2006), se pone de manifiesto la aparición de cepas de SARM con resistencia a este antibiótico, hecho que no se había producido hasta entonces y que ha sido raramente descrito en la literatura, destacando un estudio realizado en Taiwan, en el cual la prevalencia de SARM con resistencia a quinupristina-dalfopristina era del 31% (Luh y cols., 2000).

Es conocida la pobre actividad que posee este antibiótico frente a *E. faecalis* (CMI<sub>90</sub> de 32 µg/mL) (Johnson y cols., 1995). De hecho, hay estudios que muestran que la sensibilidad de este microorganismo a quinupristina-dalfopristina es sólo del 4% (Elsner y cols., 2000). Parece ser que la resistencia se debe a una pérdida del efecto sinérgico existente entre ambas estreptograminas, lo cual es consecuencia de la resistencia intrínseca que posee esta bacteria frente a las estreptograminas del tipo A (dalfopristina) (Dina y cols., 2003).

## **TELITROMICINA**

La telitromicina pertenece al grupo de los cetólidos, una nueva familia de antibióticos derivados de los macrólidos de 14 átomos pero que en la posición 3 tienen un grupo ceto, en lugar de un azúcar (Sevillano y cols., 2006). Esta molécula fue la primera en comercializarse para uso clínico, pero existe otro cetólido dentro del grupo, que se encuentra en investigación, la cetromicina (ABT-773).

Todas las modificaciones realizadas en la estructura de telitromicina, con respecto a los macrólidos, le confieren una mejor actividad y una menor capacidad

de inducción de resistencias (Wellington y Noble, 2004). De esta manera, y a diferencia de macrólidos, lincosamidas y estreptograminas, este nuevo antibiótico no induce la expresión del gen *erm*.

Telitromicina, al igual que el grupo MLS<sub>B</sub>, actúa sobre la subunidad 50S del ribosoma bacteriano, bloqueando la síntesis de proteínas. Esta inhibición se produce en dos pasos consecutivos, en primer lugar inhibe la translación del ARNr y evita la fase de elongación; y en segundo lugar, interfiere en la fase inicial de la síntesis proteica, impidiendo la formación de subunidades funcionales que son degradadas por ribonucleasas (Wellington y Noble, 2004).

Los estudios sobre resistencia a telitromicina son escasos, pero se han descrito algunos aislados resistentes a este cetólido. Esta resistencia parece ser debida a modificaciones en la diana (subunidad 23S del ARNr) aunque también es conocido que los mecanismos de expulsión intervienen en dicha resistencia. En el caso de *S. aureus* se ha descrito un nuevo mecanismo de resistencia relacionado con los sistemas de transporte ABC codificado por los genes *msrA*, *msrC* y *msrD* (Reynolds y Cove, 2005).

Posee actividad *in vitro* frente a la mayoría de patógenos grampositivos y gramnegativos, y su actividad está clínicamente demostrada para estafilococos y estreptococos. Carece de actividad frente a *S. aureus* con fenotipo cMLS<sub>B</sub>, pero es activa frente a las cepas sensibles a eritromicina y clindamicina.

No se recomienda su uso frente a enterococos (Sevillano y cols., 2006) ya que existen estudios que demuestran que telitromicina tiene una actividad fundamentalmente inhibitoria frente a *E. faecalis*, no bactericida (Hoellman y cols., 1999; Baltch y cols., 2001).

En el caso de *S. agalactiae*, los últimos estudios sitúan la resistencia a tetramicina en un 1,8% (González y cols., 2004).

## **TETRACICLINAS**

Las tetraciclinas son antibióticos de amplio espectro, con acción bacteriostática, cuyo principal representante a nivel de utilización clínica es doxiciclina (Pérez-Trallero e Iglesias, 2003). Son antibióticos naturales o semisintéticos cuya estructura coincide con un tetraciclo de naftacencarboxamida (Dámaso, 2006).

Una clasificación práctica de las tetraciclinas queda reflejada en la tabla 4 (Dámaso, 2006):

**Tabla 4:** Clasificación de las tetraciclinas

<b>Tetraciclinas con semivida &lt; 12 horas</b>	<b>Tetraciclinas con semivida &gt; 12 horas</b>
Tetraciclina	Desmetilclorotetraciclina (Demeclociclina)
Oxitetraciclina (Terramicina)	Metaciclina (Rondomicina)
Clorotetraciclina (Aureomicina)	Doxiciclina
<u>Ésteres de la Tetraciclina:</u> Rolitetraciclina, Mepiciclina, Limeciclina, Guameciclina, Apiciclina, Etamociclina, Clomociclina.	Minociclina

Actúan en el interior de la bacteria después de penetrar por un proceso dependiente de energía. Se fijan de manera reversible, durante la fase de inicio de la síntesis proteica, a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano (Williams, 1996b)

impidiendo la entrada del aminoacil-ARNt en el lugar aceptor del complejo formado por la subunidad 30S del ribosoma y el ARNm.

Presentan un amplio espectro antibacteriano que es similar para todos los componentes del grupo. Son activas frente a cocos grampositivos (estafilococos y estreptococos), así como frente a bacilos grampositivos y gramnegativos, y micobacterias.

### **Mecanismos de resistencia**

Los mecanismos de resistencia a estos compuestos están ampliamente difundidos entre las bacterias grampositivas, debido a su amplio consumo durante años, tanto en seres humanos, como en animales, para favorecer su crecimiento (Pérez-Trallero y cols., 2003; Roberts, 1994; Roberts, 1996; Speer y cols., 1992). La adquisición de esta resistencia suele ser lenta, progresiva y escalonada. Es común para todas las tetraciclinas, salvo para minociclina en algunas cepas, y puede ser cruzada con cloranfenicol y eritromicina (Dámaso, 2006).

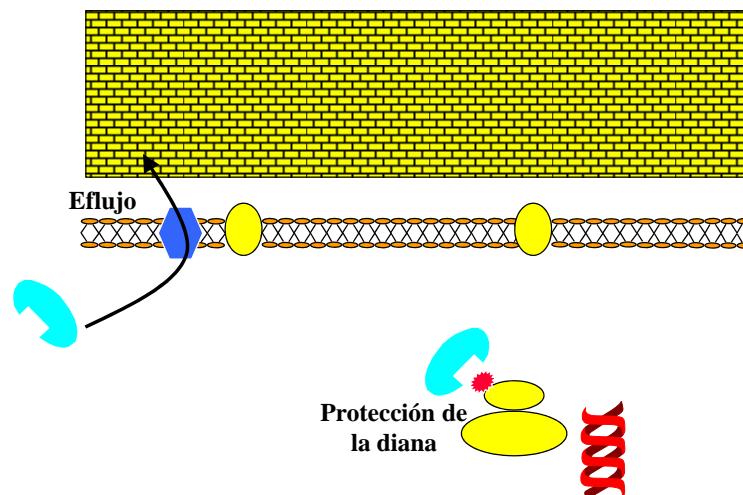
La resistencia a este grupo de antibióticos suele estar mediada por plásmidos. En los estafilococos la resistencia se debe a la presencia de pequeños plásmidos multicopia, mientras que en los estreptococos los genes se localizan en el cromosoma, y en los enterococos en plásmidos no conjugativos.

Los determinantes genéticos de resistencia se denominan *tet*. Están implicados en diferentes mecanismos: alteración de la permeabilidad, expulsión activa, cambios ribosomales e inactivación enzimática (este último mecanismo sólo se ha encontrado en el género *Bacteriodes* spp. y en *Escherichia coli*) (figura 6).

En el mecanismo de bombeo activo los genes encontrados pueden ser *tetA* y *tetB*; mientras que, en aquellos mediados por la protección del ribosoma encontramos *tetM*, *tetO* y *tetQ*. En el caso de las bombas de eflujo, el gen más encontrado en *S. aureus* es *tetK*, mientras que en enterococos y estreptococos es, fundamentalmente, el gen *tetL* (Speer y cols., 1992). Ambas clases comparten hasta un 69% de homología genética y se encuentran principalmente en bacterias grampositivas.

En cuanto a la protección del ribosoma, está mediada por una proteína, que, aún en presencia de tetraciclinas, permite la unión del aminoacil-ARNt al ribosoma y se impide la inhibición de la síntesis proteica. Originalmente, *tetM* se aisló en cocos grampositivos pero también se ha visto que *tetO* se puede encontrar en estos microorganismos.

**Figura 6:** Resistencia a tetraciclinas en cocos grampositivos



Las tetraciclinas, como hemos visto, necesitan incorporarse al interior de la bacteria por un mecanismo de transporte activo para ejercer su acción. De manera que, básicamente, la resistencia a tetraciclinas se debe a una disminución de sus concentraciones en el interior de la bacteria o pérdida de la permeabilidad celular,



siendo el mecanismo de bombeo el más importante y mejor estudiado (Speer y cols., 1992), de tal manera que las bacterias resistentes concentran menos tetraciclinas. En algunas cepas de *S. aureus*, además, se pueden producir problemas con el transporte de las tetraciclinas debido a defectos en la adenilato-ciclasa o en el AMPc, impidiendo así su paso al citoplasma. Y también puede producirse resistencia por el mecanismo de protección ribosomal que permite actuar al aminoacil-ARNt en presencia de concentraciones de estos antibióticos, que, normalmente, inhibirían la síntesis de proteínas (Dámaso, 2006).

La resistencia a tetraciclinas también es importante porque los genes codificantes de esta resistencia, al estar localizados en plásmidos próximos a los lugares de inserción, van a adquirir nuevos genes de resistencia, creciendo el espectro de resistencia a los antibióticos y dando lugar a cepas multirresistentes (Pérez-Trallero y cols., 2003).

### **Evolución de la resistencia**

En España, la prevalencia de esta resistencia es inferior al 5% en el caso de *S. aureus* sensible a meticilina, sin embargo dicha resistencia se hace más elevada en el caso de SARM, *S. agalactiae* y enterococos (Pérez-Trallero y cols., 2003). Posteriormente, en el estudio VIRA 2006, se confirmó que la resistencia a tetraciclinas sigue siendo inferior al 5% en el caso de SASM (Picazo y cols., 2006). En el estudio europeo SENTRY se obtuvo un porcentaje de resistencias a tetraciclinas del 74% entre SARM debido, fundamentalmente, a que eran cepas multirresistentes (Schmitz y cols., 1999). En un estudio español realizado en aislados de *S. agalactiae* resistentes a eritromicina, se obtuvo una tasa de resistencia a

tetraciclinas del 89,8% y dicha resistencia se debió fundamentalmente a la presencia del gen *tetM* (75%) (Betriú y cols., 2004), lo cual coincide con el estudio de Pérez-Trallero y cols. (2003).

## **TIGECICLINA**

Tigeciclina es uno de los últimos antibióticos desarrollados para combatir problemas de resistencia. Emparentada con las tetraciclinas, se trata de una gliciliciclina, derivada de la molécula de minociclina, y como todas las tetraciclinas, es de amplio espectro antibacteriano. El desarrollo de nuevos derivados de las tetraciclinas empezó a principios de la década de 1990, con la incorporación, en la posición 9 de la minociclina, del radical N, N-dimetilglicilamido, que evita los dos principales mecanismos de resistencia a las tetraciclinas (la protección ribosomal y las bombas de expulsión) mejorando el espectro de actividad (Chopra, 2001; Zhanel y cols., 2004). La optimización final de este radical dio lugar a la molécula de tigeciclina, que ha sido aprobada para el tratamiento empírico en monoterapia de infecciones intraabdominales, de piel y tejidos blandos, tanto hospitalarias como adquiridas en la comunidad, incluyendo apendicitis complicadas, perforaciones y abscesos intraabdominales, infecciones profundas de tejidos blandos, quemaduras y úlceras infectadas (Gobernado, 2006).

Tigeciclina, al igual que las tetraciclinas, se une a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano e inhibe la síntesis proteica, bloqueando la entrada de las moléculas de aminoacil-ARNt en el lugar aceptor del ribosoma (Bauer y cols., 2004; Bergeron y cols., 1996). Parece que el elevado volumen del radical, añadido en la posición 9 de la molécula, hace que tigeciclina posea mayor actividad y menor

posibilidad de alterarse por los principales mecanismos de resistencia de las bacterias a tetraciclinas (Yang y cols., 2004): protección del ribosoma (como genes *tetM* o *tetO*) y bombas específicas de expulsión activa para macrólidos y tetraciclinas (como el gen *tetK* en estafilococos).

En líneas generales se ha visto que la CMI<sub>90</sub>, tanto para *S. aureus* sensible como resistente a meticilina, cepas VISA y VRSA, *S. agalactiae* y *E. faecalis*, tanto sensible como resistente a vancomicina, es de 0,12 µg/ml (Soriano, 2008). La acción de tigeciclina se considera bacteriostática (Rello, 2005; Stein y Craig, 2006) y se sabe que la mayoría de bacterias resistentes a doxiciclina son sensibles a tigeciclina. Además, presenta sinergismo al asociarse a rifampicina frente a algunas cepas de enterococos, incluidas las resistentes a vancomicina (Petersen y cols., 2006).

Hasta el momento, no se han encontrado aislados resistentes a este antibiótico y por lo tanto, constituye una buena alternativa para el tratamiento de patógenos grampositivos multirresistentes (Betriú y cols., 2004; Sorlózano y cols., 2006; Sorlózano y cols., 2007)

### **TRIMETOPRIMA-SULFAMETOXAZOL (COTRIMOXAZOL)**

Las sulfamidas son unas sustancias estructuralmente relacionadas con el ácido para-aminobenzoico (PABA), que es un factor necesario para la síntesis de nucleótidos en las bacterias, y, por tanto, su mecanismo de acción se relaciona con la inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos bacterianos. Son antibióticos sintéticos, entre los cuales la sufamilamida es la primera representante y a partir de la cual se desarrollaron las demás moléculas.

Una clasificación práctica de las sulfamidas se realiza en función de su vía de administración, sus características de absorción intestinal y su vida media, como se refleja en la tabla 5.

**Tabla 5:** Clasificación general de las sulfamidas

<b>Absorbibles de vida media corta (6 - 8h)</b>	Sulfadiazina, Sulfisoxazol, Sulfametoxazol, Sulfadimidina, Sulfapiridina, Sulfatiazol, Sulfametizol, Sulfasomidina.
<b>Absorbibles de vida media larga (12 - 24h)</b>	Sulfadoxina, Sulfadimetoxina, Sulfametoxidiazina, Sulfametoxipiridazina.
<b>No absorbibles</b>	Ftalilsulfatiazol, Formilsulfatiazol, Sulfaguanidina, Sulfaguano, Sulfasalazina, Sulfasuxidina.
<b>De aplicación tópica</b>	Sulfacetamida y Sulfadiazina argéntica.

Debido a la alta capacidad de las sulfamidas para seleccionar resistencias, su baja acción antimicrobiana y su alta toxicidad, no suelen emplearse de manera aislada, sino que suelen combinarse con la familia de las diaminopirimidinas (pirimetamina y trimetoprima). En concreto, la asociación trimetoprima y sulfametoxazol (cotrimoxazol) es la más frecuente empleada en nuestro país. Para obtener una acción sinérgica es necesario obtener concentraciones séricas de 1/20, lo cual se consigue cuando se administran trimetoprima y sulfametoxazol en proporción de 1/5 (Gómez y cols., 2006; Pérez-Trallero y cols., 2003).

Las sulfamidas impiden, por competición, la incorporación del PABA a la ruta biosintética del ácido tetrahidrofólico, precursor de las bases púricas y pirimidínicas. Actúan al inhibir la enzima dihidropteroato-sintetasa, que convierte el PABA en ácido dihidropteroico. En esta misma ruta biosintética también actúa trimetoprima, pero en un paso posterior: inhibe, también por competición, la

dihidrofolato-reductasa que participa en la reducción del dihidrofolato a tetrahidrofólico (Williams, 1996c).

Como consecuencia de la actuación de esta asociación de antibióticos, se impide el crecimiento de los microorganismos mostrando un efecto principalmente bacteriostático, aunque frente a determinadas especies pueden presentar una acción bactericida (Gómez y cols., 2006).

Las sulfamidas se han considerado desde siempre antibióticos de amplio espectro porque son activas frente a microorganismos tanto grampositivos (estafilococos y estreptococos) como gramnegativos. Sin embargo, como veremos posteriormente, los enterococos son, de forma natural, resistentes a las sulfamidas. Su principal inconveniente, como se ha comentado antes, estriba en la alta capacidad de seleccionar mutantes resistentes.

### **Mecanismos de resistencia**

Los mecanismos de resistencia a ambos compuestos son comunes: síntesis de enzimas modificadas, hiperproducción enzimática, desarrollo de vías metabólicas alternativas, alteración de la permeabilidad y sistemas de eflujo (Huovinen y cols., 1995). Estos mecanismos de resistencia pueden producirse por mutaciones en el cromosoma, o, en la mayoría de los casos, por adquisición de elementos genéticos móviles que, además, pueden transmitir resistencia a otros antibióticos dando lugar a bacterias multirresistentes (Pérez-Trallero y cols., 2003).

Las mutaciones en los genes cromosómicos *dhps* y *dhpr* que regulan, respectivamente, la síntesis de la dihidropteroato-sintetasa y la dihidrofolato-reductasa, afectan a la afinidad de estas enzimas por las sulfamidas y la trimetoprima.

En ocasiones, estas mutaciones favorecen la hiperproducción enzimática, que combinada a la baja afinidad por los sustratos, determinan grados de resistencia muy altos. Ambos mecanismos son relativamente frecuentes y están ampliamente distribuidos.

En el caso de las sulfamidas, la resistencia es consecuencia de la síntesis, por parte de la bacteria, de una nueva enzima, la dihidropteroico-sintetasa, con una mala afinidad por el antibiótico, resultante de una mutación o de la adquisición de un plásmido que provoca la síntesis de esta nueva enzima.

Sin embargo, el mecanismo más extendido de resistencia a sulfamidas, que se ha demostrado en *S. aureus*, entre otras especies, es la capacidad de incrementar la síntesis de PABA, superando, de esta manera, el antagonismo competitivo de las sulfamidas hacia la dihidropteroico-sintetasa (Gómez y cols., 2006).

En el caso de trimetoprima, la resistencia está producida por la síntesis de una enzima modificada, la dihidrofolato-reductasa, en un proceso mediado, generalmente, por plásmidos o transposones.

### **Evolución de la resistencia**

En el caso de *S. aureus* la prevalencia de mutantes resistentes a cotrimoxazol es relativamente baja (inferior al 1% en cepas sensibles a meticilina y entre el 5 y el 15% en cepas meticolin resistentes) (Pérez-Trallero y cols., 2003), por lo que puede constituirse en una alternativa terapéutica eficaz en estos casos. Principalmente, la resistencia a cotrimoxazol en *S. aureus* se produce en cepas resistentes a meticilina, por tanto, la prevalencia de estafilococos resistentes a esta combinación de

antibióticos aparece fundamentalmente en el medio hospitalario (Huovinen y cols., 1995).

Los enterococos son resistentes a las sulfamidas de manera natural (Pérez-Trallero y cols., 2003). Sin embargo, el mecanismo de resistencia sigue siendo desconocido debido a que en numerosos estudios se demuestra eficacia *in vitro*, pero no *in vivo*, donde se describen fracasos terapéuticos (Chenoweth y cols., 1990; Goodhart, 1984; Grayson y cols., 1990; Najjar y Murray, 1987).

Se ha visto que la resistencia a trimetoprima, al contrario de lo que sucede en otros antibióticos, no se transfiere entre *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp. (Frosolono y cols., 1991).

## **RIFAMPICINA**

Rifampicina, antibiótico representante de las ansamicinas, es un antibiótico semisintético derivado de rifamicina B. Los cinco representantes de las rifamicinas son: rifamicina, rifampicina, rifabutina, rifaximina y rifapentina (ésta última no comercializada en España). Presentan una estructura naftoquinónica, lo cual hace que tengan cierto parecido estructural con los macrólidos (Dámaso, 2006).

Rifampicina es el principal representante de esta familia a nivel clínico. Actúa inhibiendo la ARN-polimerasa mediante la formación de un complejo con su subunidad  $\beta$ , inhibiendo el inicio de la transcripción. Por tanto, afecta a la incorporación de nucleótidos en la síntesis del ARNm y, finalmente, a la síntesis de ADN (Williams, 1996a; Casal, 2006). La formación del complejo es previa al inicio

de la transcripción, si bien el efecto bactericida que se produce no es por inhibición del inicio, sino porque afecta a la elongación de ARNm.

Este antibiótico tiene un amplio espectro de acción. Es activo frente a cocos grampositivos como *S. aureus* (independientemente de su comportamiento frente a penicilinas y macrólidos) y *S. agalactiae*, mostrándose prácticamente inactivo frente a enterococos. Fundamentalmente, se utiliza como tuberculostático (frente a *Mycobacterium tuberculosis*) y antiestafilocócico, en especial frente a cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina.

El aislamiento de cepas resistentes a rifampicina durante el tratamiento es relativamente frecuente. Asimismo, es fácil obtener, *in vitro*, mutantes resistentes a rifampicina. Ambos casos deben su resistencia a mutaciones o deleciones en el gen *rpoB* que codifica la subunidad  $\beta$  de la ARN polimerasa (Spratt, 1994). Como consecuencia se reduce la afinidad de esta subunidad por el antibiótico, aunque no se altera la actividad de la enzima.

Por lo tanto, a la hora de tratar una infección por SARM con rifampicina hay que tener en cuenta que, debido a su alta capacidad de selección de mutantes resistentes, las guías de práctica clínica recomiendan asociar otro antibiótico como puede ser cotrimoxazol o ácido fusídico.

A pesar de ser prácticamente inactiva frente a enterococos, se ha visto que, en el caso de enterococos resistentes a glucopéptidos, la sensibilidad a rifampicina permanece prácticamente inalterable, de hecho se sitúa en un 94,6% de sensibilidad en Estados Unidos frente a un 78,6% en Europa (Deshpande y cols., 2007).



## **OXAZOLIDINONAS**

Esta familia de antibióticos, cuyo único componente comercializado en la actualidad es linezolid (Norrby, 2001), surge para hacer frente al creciente problema de las multirresistencias en bacterias grampositivas (fundamentalmente *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. y *Enterococcus* spp.) (Carmona y cols., 2003). Es un antibiótico obtenido por síntesis, que presenta una estructura tricíclica, con un radical metilacetamida en el anillo de oxazolidinona y un flúor en posición meta. Actualmente existen otros miembros de esta familia en estudio, como eperozolid y ranbezolid (Betriú y Picazo, 2006).

Las oxazolidinonas inhiben la síntesis proteica mediante la fijación al sitio 23S del ARNr de la subunidad 50S del ribosoma, inhibiendo la formación del complejo de iniciación de la síntesis de proteínas (Swaney y cols., 1998). Así, consigue tener un efecto fundamentalmente bacteriostático frente a *Staphylococcus* spp. y *Enterococcus* spp., mientras que, usado a dosis altas, presenta acción bactericida frente a *Streptococcus* spp. (Pigrau, 2003).

El espectro de actividad, frente a los microorganismos aerobios, de las oxazolidinonas es similar al de vancomicina. Linezolid es activo frente a la mayoría de los microorganismos grampositivos, incluyendo los estafilococos resistentes a meticilina y *S. agalactiae* resistentes a eritromicina (Betriú y cols., 2000). Además, se ha demostrado que la actividad de linezolid frente a enterococos es independiente de su sensibilidad a vancomicina (Cercenado y cols., 2001).

Para conseguir el éxito terapéutico, es necesario que la concentración plasmática esté el máximo tiempo por encima de la CMI del microorganismo, por tanto, no sería necesario alcanzar el pico plasmático máximo.

En las infecciones por SARM, linezolid debería considerarse fundamentalmente en aquellos casos que presenten toxicidad o una respuesta pobre a los glucopéptidos y, entre ellas, las infecciones por *S. aureus* con sensibilidad intermedia a glucopéptidos (GISA). En algunos de estos procesos cotrimoxazol, asociado o no a rifampicina, podría ser una buena alternativa si la bacteria es sensible.

Mutaciones en la subunidad 23S del ARNr se han asociado con resistencia a linezolid en especies como *S. aureus* (Tsiodras y cols., 2001), estafilococos coagulasa negativos (Tarazona y cols., 2007), *E. faecalis* y *E. faecium* (Werner y cols., 2004).

En este sentido, la mutación G2576T es la causa más frecuente de resistencia a linezolid encontrada en aislados clínicos de *Enterococcus* spp. y *Staphylococcus* spp. (Hong y cols., 2007). Sin embargo, *in vitro*, tras exposición al antibiótico, se han descrito otras mutaciones como G2447T y T2500A en *S. aureus*, C2534T en *S. epidermidis*, G2505A en *E. faecium* ó C2512T, G2513T y C2610G en *E. faecalis* (Kelly y cols., 2008; Meka y cols., 2004). También se ha descrito resistencia a linezolid por la acción de una Cfr-rRNA metiltransferasa, que confiere resistencia, además, a fenicoles, lincosamidas, pleuromutilinas y estreptogramina A (Long y cols., 2006).

Recientemente, se ha encontrado en nuestro país el primer aislado de SARM no sensible a linezolid, que presentaba una CMI de 64 µg/ml y parece ser que dicha resistencia se debe, como se ha visto anteriormente, a mutaciones del gen que codifica el dominio V de la subunidad 23S del ARNr (Picazo y cols., 2006). Esta resistencia ha sido demostrada en otras partes del mundo y siempre en pacientes que

se han visto sometidos a tratamientos de larga duración con linezolid (durante 4 a 6 semanas) (Mutnick y cols., 2003; Pillai y cols., 2002; Wilson y cols., 2003).

En el caso de los enterococos, se han aislado cepas resistentes, fundamentalmente, en *E. faecium* (Gonzales y cols., 2001), de manera que sólo se han publicado casos aislados de ineficacia de este antibiótico frente a *E. faecalis* (Johnson y cols., 2002, Ruggero y cols., 2003; Tsigrelis y cols., 2007). Tampoco se conocen, por el momento, aislados de estreptococos resistentes a las oxazolidinonas; de hecho, en un estudio europeo (Gemmell, 2001) y en otro español (Betriú y cols., 2000), realizados sobre *S. agalactiae*, el 100% de los aislados fueron sensibles a linezolid.

## **ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL DEL DESARROLLO DE RESISTENCIAS**

Uno de los aspectos más evidentes en la aparición y el continuo incremento de las resistencias bacterianas es que ambos hechos se asocian al amplio uso de antibióticos (Levy, 1997; Baquero y cols., 2003). Existen numerosos ejemplos, tanto en el ámbito hospitalario como en el extrahospitalario, que demuestran esta asociación (Gold y Moellering, 1996; Neu, 1992). De hecho, García-Rodríguez y Rodríguez-Sánchez (1997) refieren que el aumento de infecciones nosocomiales debidas a patógenos grampositivos se debe a la extensa utilización de antibióticos de amplio espectro como cefalosporinas o fluorquinolonas, entre otros, y que, además, estas infecciones son producidas por patógenos multirresistentes, por tanto, difíciles de combatir.

El uso de antibióticos de amplio espectro no sólo favorece la selección de mutantes resistentes entre los microorganismos grampositivos, sino que también son culpables de la presión selectiva sobre bacterias gramnegativas y la aparición de determinados fenotipos de resistencia, tal es el caso de las cefalosporinas y la presencia de betalactamasas de espectro extendido (Patterson, 2001).

Además, hay que tener en cuenta que las infecciones producidas por patógenos resistentes presentan mayor morbi-mortalidad, suponen un incremento de la asistencia sanitaria, elevan el coste del tratamiento y se relacionan con un deterioro en la calidad del tratamiento de futuros pacientes (Dirección General de Aseguramiento y Planificación Sanitaria, 1995).

A pesar del coste, en términos metabólicos, que supone la adquisición de mecanismos de resistencia (Gillespie y McHugh, 1997), las bacterias han sido capaces de asumir simultáneamente varios de estos procesos, impidiendo la acción de gran número de antibióticos. Enterococos resistentes a betalactámicos, aminoglucósidos y glucopéptidos, *S. agalactiae* resistente a macrólidos y *S. aureus* resistentes a meticilina y con sensibilidad disminuida a vancomicina, son algunos de los problemas más acuciantes dentro del panorama de las infecciones por grampositivos. Esta situación ha alertado tanto a profesionales sanitarios como a las autoridades sanitarias para tratar de evitar situaciones de falta de opciones terapéuticas y la entrada en una “era postantibiótica” (Baquero, 1996; Neu, 1992).

La prevención y el control del desarrollo de resistencias deben estar ligados a un mejor uso de los antibióticos. Se estima que el 90% del consumo de estos fármacos se realiza en el ámbito extrahospitalario, con fines preventivos o terapéuticos, incluido el ámbito veterinario (Díez y Calderón, 1997). El consumo de

antibióticos en el hospital, es, sin embargo, menor, debido a que en el hospital existe un mayor control de la prescripción de antibióticos: existen comisiones asesoras sobre infección nosocomial, listas restringidas de antibióticos, antibióticos de segunda y tercera línea, guías actualizadas de tratamiento antibiótico, patrones locales de resistencia, la automedicación está más controlada y tanto la evolución clínica del paciente como el cumplimiento del tratamiento están supervisados. Por su parte, a nivel extrahospitalario, la relación entre el consumo exagerado de antibióticos y la aparición de resistencias está directamente relacionada con una prescripción médica inadecuada, la dispensación sin receta por parte de los farmacéuticos y el uso indiscriminado de los antibióticos por parte de los pacientes (Palop Larrea y cols., 2003).

En este sentido, en un estudio sobre la percepción de los médicos prescriptores acerca de la importancia o relevancia de las resistencias microbianas, se puso de manifiesto que, aunque todos los médicos estaban de acuerdo en que las resistencias antibióticas constituían un problema de los más importantes, su percepción sobre las resistencias locales, las causas y sus posibles soluciones variaban ampliamente, e, incluso, en algunos casos, eran contrarias a la evidencia científica (Wester y cols., 2002).

En nuestro país, un tercio de las prescripciones de antibióticos en el medio extrahospitalario se realiza de forma inadecuada, y hasta un 35% de las dispensaciones de fármacos sin receta médica corresponden a antibióticos (Baquero, 1996). El panorama en el ámbito hospitalario no es muchas veces más alentador.

En algunos estudios, realizados fuera de nuestro país, se indica que cerca del 50% de los antibióticos se emplean de manera inadecuada (Gaynes y Monnet, 1997).

En este ambiente las conclusiones son siempre negativas (Giamarellou y Antoniadou, 1997; McGowan, 1983):

- La resistencia es más prevalente entre los patógenos que normalmente causan infecciones nosocomiales.
- Las unidades con mayor consumo de antibióticos presentan siempre tasas más elevadas de resistencia.
- En situaciones de brotes o epidemias, los pacientes que han recibido antibióticos tienen mayor probabilidad de infectarse por bacterias resistentes.
- Las infecciones por bacterias resistentes se asocian a mayor morbilidad, mortalidad y coste de tratamientos que aquellas causadas por bacterias sensibles.

Por el contrario, y siempre que no se hayan alcanzado situaciones irreversibles, un cambio en la política de antibióticos tiende a contener, y en determinadas circunstancias a disminuir, las tasas de resistencia (Giamarellou y Antoniadou, 1997).

Un informe de la OMS del año 2002 indica que para erradicar las resistencias bacterianas sería necesaria una reducción significativa del consumo de antibióticos. Sin embargo, para que pueda acometerse este objetivo con resultados positivos es necesario que tanto la población como los profesionales estén concienciados de la importancia de este problema (Smith y Coast, 2002).

Los puntos clave para contener las resistencias bacterianas según el documento de consenso creado por dos sociedades científicas nacionales implicadas en el tema, así como las medidas de contención propuestas en estudios internacionales serían (Beam y Buckley, 2006; Hanberger y cols., 2001; OMS, 2005; Rodríguez-Baño y cols., 2008):

- Vigilancia epidemiológica, mediante la recogida sistemática de la información, su análisis e interpretación, así como su difusión entre los profesionales implicados.
- Medidas de control de portadores de microorganismos altamente resistentes, o bien, de aquellos que presentan infecciones producidas por dichos patógenos, como puede ser el aislamiento o la erradicación en el caso de los portadores.
- Formación de los profesionales y concienciación de la población con respecto a la relevancia de este problema, para realizar políticas antibióticas eficientes.

### **SITUACIÓN DEL CONSUMO ANTIBIÓTICO EN ESPAÑA**

En los estudios de consumo de medicamentos, los parámetros de medida pueden ser las cantidades dispensadas, tales como el número de envases, unidades de dosificación (tableta, gotas, comprimidos, etc), unidades de peso de sustancia activa (gramos, mg, etc), número de prescripciones, o los costes de los medicamentos. No obstante, con estos parámetros puede resultar difícil hacer comparaciones adecuadas, porque pueden variar según el medicamento considerado (e incluso, para un mismo medicamento a lo largo del tiempo) y porque pueden variar notablemente de unos países a otros.

Para obviar este problema, la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso una unidad técnica internacional de medida de consumo de medicamentos denominada Dosis Diaria Definida (DDD), que es independiente de las variaciones en el precio y en el contenido ponderal de las especialidades farmacéuticas del medicamento.

La DDD es la dosis diaria media cuando se usa un fármaco en su principal indicación. Su definición completa es: la DDD es la unidad técnica de medida y

comparación, que equivale a la dosis media diaria de mantenimiento cuando se utiliza en su indicación principal, por una vía determinada, expresada en cantidad de principio activo (WHO, 2002). El valor de cada fármaco es establecido por el “Nordic Council on Medicines” y se establece de forma arbitraria según las recomendaciones de las publicaciones científicas, del laboratorio fabricante y según la experiencia acumulada, pero no corresponde necesariamente con la dosis utilizada por los pacientes. En general, la DDD se expresa en forma de peso de sustancia activa, se refiere a la dosis de mantenimiento en adultos y suele corresponder a la dosis de tratamiento (no a la utilizada en prevención). Normalmente, las DDD son iguales para las distintas vías de administración, pero para los fármacos administrados en dosis claramente distintas según la vía de administración, se establecen distintas DDD, una para cada vía.

En general, el cálculo del valor de DDD para cualquier medicamento es  $DDD = A / B$ , donde A es la cantidad total del fármaco consumido durante el periodo de estudio (en mg) y B es la DDD estándar de dicho fármaco (en mg)

En general, el número de DDD consumidas en un área geográfica se expresa por cada 1000 habitantes, y por día. Este parámetro puede proporcionar una estimación del número de pacientes tratados diariamente con un determinado fármaco. En este caso el cálculo sería:

$$DDD \text{ por } 1000 \text{ habitantes/día} = DDD \times 1000 / \text{tiempo (días)} \times \text{habitantes.}$$

En el caso del consumo de medicamentos en el medio hospitalario, se prefiere la utilización del parámetro DDD por cada 100 estancias, que refleja el porcentaje de pacientes que diariamente reciben tratamiento con un determinado fármaco en el hospital. De esta forma,  $DDD / 100 \text{ estancias} = A \times 100 / DDD \text{ (mg)} \times \text{estancias en}$



dicho periodo, donde A es el consumo del medicamento durante un periodo de tiempo (mg)

Sin embargo, la DDD tiene sus limitaciones:

- Es una aproximación a la exposición de una población a medicamentos, pero no equivale a la dosis diaria prescrita, y además, no todos los fármacos prescritos o dispensados se consumen.
- No refleja las indicaciones por las que se utilizan los medicamentos, ya que un mismo fármaco puede tener dosis diferentes para distintas indicaciones.

España es uno de los países europeos con mayores tasas de resistencias bacterianas en infecciones comunitarias, y este hecho se relaciona con el alto consumo de antibióticos en nuestro país, ya que somos el mayor consumidor de antibióticos de la Unión Europea, situándonos sólo por detrás de Francia (Cars y cols., 2001).

El consumo de antibióticos en España alcanzó su máximo histórico en 1995, con 22,1 dosis diaria definida (DDD) por 1.000 habitantes y día (DHD). A partir de ese momento disminuyó hasta 18 DHD, y se estabilizó hasta 2001 (Lázaro y cols., 2002). Sin embargo, a partir de esa fecha se ha registrado un aumento del consumo, llegando en el año 2005 a 19,3 DHD. Este cambio en la tendencia se debe, fundamentalmente, al incremento del uso de penicilinas, contando con, aproximadamente, el 50% del mercado durante todo el periodo de estudio, aunque en un principio la balanza se inclinó hacia el lado de las penicilinas de amplio espectro en monoterapia y después, hacia el lado de las penicilinas asociadas a

inhibidores de las betalactamasas. Sin embargo, en el resto de los grupos de antibióticos ha habido cambios relevantes durante los 16 años que comprende este estudio, de manera que el grupo de las tetraciclinas y el cotrimoxazol pasó de un segundo puesto en la década de los 80 a un plano prácticamente irrelevante, mientras que el grupo de cefalosporinas, macrólidos y quinolonas ocupó ese segundo puesto en la última década del estudio. En cuanto al análisis de estos subgrupos terapéuticos, no detectaron diferencias apreciables entre las diferentes comunidades autónomas (Lázaro y cols., 2002).

En Europa, en la mayoría de países, se describe un aumento progresivo de los antibióticos nuevos, de amplio espectro, en detrimento del uso de los antibióticos más antiguos, o de estrecha cobertura, como penicilinas o cefalosporinas. Sin embargo, los países nórdicos siguen prescribiendo, ampliamente, este tipo de antibióticos (Goossens y cols., 2005).

Los datos de este estudio reflejan el consumo de los medicamentos obtenido a partir de los envases dispensados en las oficinas de farmacia con cargo al Sistema Nacional de Salud y expresado en forma de DHD (Capellà, 1993). La ventaja de la DHD respecto a otras unidades de medida, como por ejemplo el número de envases, es que permite realizar comparaciones en el tiempo y entre países, ya que no se ve influenciada ni por el número de formas farmacéuticas, ni por la concentración del principio activo, ni por el envase, ni por la población.

Paradójicamente, la evolución del consumo de antibióticos en España expresado en número de envases muestra un perfil diferente. El número de envases de penicilinas dispensados por año disminuye un 40% desde 1996 a 2005 (WHO, 1999). La causa principal de esta disminución es el descenso del número de envases

de amoxicilina consumidos, junto con el mantenimiento de los de amoxicilina-clavulánico.

La aparente paradoja observada al comparar el consumo de las asociaciones de penicilinas con inhibidores de betalactamasas expresado en forma de DHD y en forma de número de envases es fruto del uso de dosis más elevadas de estas asociaciones. Este aumento de dosis no siempre está justificado. Así, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) publicó una nota informativa (AEMPS, 2006) en la cual recuerda que el uso de amoxicilina-clavulánico únicamente estaría justificado ante la sospecha de infecciones causadas por bacterias cuyo mecanismo de resistencia sea la producción de betalactamasas.

Como ya se ha expuesto, los datos obtenidos de DHD proceden de las prescripciones con cargo al Sistema Nacional de Salud que han sido dispensadas en oficinas de farmacia. Por lo tanto, no incluyen la dispensación de antibióticos sin receta médica ni la prescripción privada. Esto debería suponer un sesgo mínimo, no obstante Barbero-González y cols. (2006) estimaron que, aproximadamente, el 13,1% del total de antibióticos demandados se dispensaron sin receta, negándose la dispensación únicamente en el 1,3% de los casos. La venta sin receta se concentró en el grupo de las penicilinas, y, fundamentalmente, en amoxicilina y amoxicilina-clavulánico, que contribuyeron con un 56%.

En Europa existen diferencias significativas en el uso extrahospitalario de antibióticos, llegando a ser 3 veces superior el consumo en Francia (32,2 DHD) que en Noruega (10 DHD) (Goossens, 2005). En relación a esto, el estudio SARISA (Study on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus*), del año 2004, indica que Noruega presenta menor tasas de resistencias que Francia, lo cual hace que tenga

sentido una relación entre resistencia y consumo de antibióticos (Zinn y cols., 2004). De esta manera, podemos decir que las resistencias bacterianas en los diferentes países tienen una evolución paralela al consumo de antibióticos, aunque existen pocos estudios que hayan relacionado directamente estos dos factores, a pesar de la importancia que tienen ambos.

Por último, existen diversos estudios que relacionan el consumo de determinados antibióticos y microorganismos concretos, como el caso de imipenem y *P. aeruginosa*, o cefalosporinas de tercera generación y *E. coli* productores de BLEEs, mientras que no se ha demostrado dicha relación en otros casos, como el consumo de cloxacilina y la presencia de *S. aureus* meticilín-resistente (Colomina y cols., 2008). Estos resultados también se pusieron de manifiesto en el trabajo de Calderón y cols. (2008), en el que relacionaron DDDs y sensibilidad en tres microorganismos multirresistentes como son *E. coli*, *P. aureuginosa* y *E. faecalis*.

Sin embargo, un estudio inglés anterior, demostró que el consumo de antibióticos, en general, estaba directamente relacionado con las resistencias bacterianas de manera estadísticamente significativa, tanto para *S. aureus* como para otros microorganismos objeto del estudio (Dancer y cols., 2006). De hecho estos autores concluyeron que la resistencia antibiótica era la única diferencia significativa entre las distintas unidades de hospitalización que se comparaban, y que parecía ser consecuencia de la presión ejercida por la diferente cantidad de antibióticos consumidos en ellas. Además, según otros estudios (Muller y cols., 2003) el consumo de antibióticos no sólo está relacionado con el incremento de resistencias bacterianas, sino que también se relaciona con un aumento en la tasa de adquisición de SARM en los pacientes hospitalizados, y ambos factores dependen del subgrupo

de antibiótico utilizado, de manera que el mayor riesgo de colonización por SARM se produce, específicamente, en aquellas unidades que son grandes consumidoras de betalactámicos y fluorquinolonas.

# **OBJETIVOS**

En la actualidad, *Staphylococcus aureus* es una de las causas más habituales de infecciones, tanto hospitalarias como comunitarias. Su elevada frecuencia y la presencia de aislados resistentes a meticilina hacen que se le considere uno de los patógenos nosocomiales más importantes en todo el mundo. Es una bacteria con una gran capacidad de adquisición de determinantes de resistencia a antibióticos, dando lugar a problemas importantes de multiresistencia. Así, las cepas SARM, además de resistencia a betalactámicos, pueden ser resistentes a tetraciclinas, macrólidos, lincosamidas, cloranfenicol, aminoglucósidos o quinolonas, entre otros, siendo, a veces, escasas las opciones terapéuticas. Además, en los últimos años estamos asistiendo a un incremento importante de las infecciones de origen comunitario por esta bacteria.

Los enterococos son importantes patógenos oportunistas nosocomiales. Se ha descrito sensibilidad disminuida a un gran número de antibióticos: betalactámicos, lincosamidas, aminoglucósidos y cotrimoxazol, presentando, además, una elevada capacidad para adquirir nuevas resistencias. En España, los aislados de *Enterococcus faecalis* conservan, en su mayoría, la sensibilidad a ampicilina, sin embargo, se han descrito cepas resistentes a glucopéptidos o a oxazolidinonas, disminuyendo las alternativas terapéuticas actuales.

Por su parte, *Streptococcus agalactiae* forma parte de la flora normal del tracto gastrointestinal y urogenital humanos. Representa la primera causa de sepsis neonatal y es un agente importante de infecciones en gestantes y de infecciones sistémicas en adultos con enfermedades de base. Los betalactámicos siguen siendo los antibióticos de elección en el tratamiento y profilaxis de las infecciones por *S. agalactiae*. Ahora bien, cada día son menos las opciones terapéuticas empíricas en

pacientes alérgicos, ya que las tasas actuales de resistencia a eritromicina en *S. agalactiae* en España son relativamente elevadas.

Por último, el motivo principal para que se generen y expandan las resistencias bacterianas a los antibióticos es el uso excesivo de los mismos. Clásicamente se asume que la aparición de resistencias tras la incorporación en terapéutica de un antibiótico es sólo cuestión de tiempo. En este sentido, España es uno de los países desarrollados con más consumo de antibióticos y mayores tasas de resistencia bacteriana, sobre todo en los patógenos de origen comunitario.

Por todo lo anteriormente expuesto, nos hemos planteado los siguientes objetivos en nuestro trabajo:

1. Analizar y comparar la actividad de antibióticos de uso habitual frente a cocos grampositivos, en aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp. y *Streptococcus agalactiae* obtenidos en dos centros hospitalarios andaluces con una actividad asistencial similar.
2. Evaluar la actividad *in vitro* de nuevos antibióticos como opciones terapéuticas frente a aislados clínicos multirresistentes, en estas tres especies.
3. Determinar la relación existente entre el consumo de antibióticos y la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* a los mismos.



**MATERIAL Y  
MÉTODOS**

## **SELECCIÓN DE LOS AISLADOS BACTERIANOS**

El presente estudio se realizó sobre un total de 1000 aislados bacterianos, de las especies *Staphylococcus aureus* (367), *Enterococcus faecalis* (185), *Enterococcus faecium* (7) y *Streptococcus agalactiae* (441). Dichos aislamientos fueron obtenidos a partir de las muestras clínicas procesadas en los servicios de Microbiología Clínica del Hospital Universitario “San Cecilio” de Granada (HSC) y del Hospital Universitario Nuestra Señora de Valme, en Sevilla (HV).

El proceso de selección de los aislados se realizó en los periodos comprendidos entre Enero de 2005 a Septiembre de 2006 en HSC, y entre Marzo de 2006 y Septiembre de 2006 en HV. Todos los aislados formaron parte del conjunto de muestras que diariamente se procesan en estos laboratorios, procedentes tanto de los servicios hospitalarios, como de Centros de Atención Primaria, dependientes de ambos hospitales.

En ambos casos, la recogida de los aislados fue sistemática y prospectiva. Cada día se seleccionaron todos aquellos microorganismos identificados como *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. faecium* o *S. agalactiae*, obtenidos a partir de los distintos tipos de muestras clínicas procesadas en dichos hospitales.

Cada servicio de Microbiología realizó la identificación del microorganismo por los procedimientos habituales empleados en ese servicio. En el HSC la identificación se realizó mediante el sistema semiautomatizado WIDER (Francisco Soria Melguizo, S.A., España) (Cantón y cols., 2000) y en HV mediante el sistema automatizado VITEK2 (BioMérieux, Marcy-L’Etoile, Francia) (Livermore y cols., 2002).

El informe obtenido en cada servicio fue recogido junto con el propio microorganismo. Los aislados obtenidos en Sevilla fueron trasladados a Granada, conservados en medio de transporte. Una vez clasificados los aislamientos, éstos fueron conservados a  $-20^{\circ}$  C hasta que se procedió a realizar el estudio de sensibilidad antibiótica. La distribución de los aislados según el hospital y el servicio de origen se observa en la tabla 6, y la distribución por tipo de muestra, en la tabla 7.

**Tabla 6:** Distribución de los aislados según el hospital de procedencia y el servicio correspondiente

		<i>S. aureus</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>S. agalactiae</i> *
<b>Hospital de procedencia</b>	<b>Granada (HSC)</b>	280	59	303
	<b>Sevilla (HV)</b>	87	133	138
<b>Servicio</b>	<b>Anatomía patológica</b>	1	1	-
	<b>Cardiología</b>	6	-	-
	<b>Cirugía general</b>	29	6	-
	<b>Cirugía vascular</b>	44	15	3
	<b>Consultas hospitalarias</b>	29	-	-
	<b>Dermatología</b>	3	1	-
	<b>Digestivo</b>	1	1	-
	<b>Endocrinología</b>	-	-	1
	<b>Extrahospitalarios</b>	96	103	151
	<b>Ginecología</b>	1	5	4
	<b>Hematología</b>	-	1	-
	<b>Hemodiálisis</b>	5	-	-
	<b>Neumología</b>	8	-	-
	<b>Neurología</b>	4	-	-
	<b>Oftalmología</b>	2	-	-
	<b>Oncología</b>	3	-	-
	<b>Otorrinolaringología</b>	6	-	-
	<b>Patología general</b>	21	8	2
	<b>Pediatría</b>	8	10	1
	<b>Preventiva</b>	1	-	-
	<b>Psiquiatría</b>	1	1	-
	<b>Reanimación</b>	3	-	-
	<b>Reumatología</b>	3	-	-
	<b>Sin identificar</b>	56	34	-
	<b>Traumatología</b>	5	-	-
	<b>Urgencias externas</b>	1	-	-
	<b>Urología</b>	4	1	-
	<b>UVI</b>	26	5	-

\* Los 279 aislados procedentes de secreciones vagino-rectales no están incluidos en esta tabla

**Tabla 7:** Distribución de los aislados clínicos de este estudio según el tipo de muestra

	<i>S. aureus</i>	<i>Enterococcus spp.</i>	<i>S. agalactiae</i>
<b>Absceso</b>	6	6	-
<b>Aspirado traqueal</b>	2	-	-
<b>Catéter</b>	3	2	-
<b>Espuito</b>	42	-	-
<b>Exudado</b>	245	40	9
<b>Hemocultivos</b>	7	-	-
<b>Lavado nasal</b>	3	-	-
<b>Leche materna</b>	1	-	-
<b>Líquido peritoneal</b>	-	1	-
<b>Líquido pleural</b>	1	-	-
<b>Líquido sinovial</b>	5	-	-
<b>Orina</b>	23	138	153
<b>Secreción biliar</b>	-	1	-
<b>Secreción conjuntival</b>	7	1	-
<b>Secreción faríngea</b>	17	-	-
<b>Secreción ótica</b>	4	-	-
<b>Secreción vagino-rectal</b>	-	-	279
<b>Semen</b>	-	1	-
<b>Sin identificar</b>	1	2	-

## **ESTUDIO DE SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA POR MÉTODO DE MICRODILUCIÓN**

A los 1000 aislados se les realizó un ensayo de sensibilidad a diversos antibióticos de uso habitual frente a microorganismos grampositivos aerobios, mediante un procedimiento estandarizado de microdilución.

Los procedimientos de dilución son los métodos de referencia para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de un antibiótico respecto de un aislado bacteriano. En función de los valores de CMI obtenidos por estos métodos podemos conocer la actividad de un antibiótico sobre un microorganismo, y las categorías clínicas (sensible, intermedio o resistente) de un microorganismo respecto a un determinado antibiótico.

Dichos procedimientos se basan en la determinación del crecimiento de un microorganismo en presencia de concentraciones crecientes del antibiótico, que se encuentra diluido en un medio de cultivo (caldo o agar).

En la mayoría de los casos se preparan diluciones del antibiótico en progresión geométrica en base 2, utilizando un medio de cultivo adecuado. Posteriormente, dicho medio se inocula con el microorganismo en cuestión, y tras la correspondiente incubación, para permitir el crecimiento del mismo, se realiza la lectura.

La CMI se define como la menor concentración de antibiótico que, a simple vista, inhibe completamente el crecimiento del microorganismo estudiado.

Como se ha comentado, la determinación de la actividad antibiótica mediante técnicas de dilución se realiza utilizando una escala discontinua (habitualmente concentraciones crecientes en base 2), por lo que, los valores de CMI reales de un determinado antibiótico, se encontrarán en algún valor situado entre la CMI experimentalmente obtenida y la concentración inmediatamente inferior. Desde el punto de vista clínico, la diferencia entre los valores real y experimental de CMI no suelen ser trascendentes.

Los antibióticos a usar en las técnicas de dilución deben obtenerse de los correspondientes fabricantes. Para los estudios *in vitro* no es adecuado utilizar las preparaciones de uso clínico, sino que deben emplearse sustancias valoradas de las que se conozcan la potencia (mg de sustancia pura por cada mg de sustancia valorada), la fecha de caducidad y el lote de preparación. Las sustancias valoradas deben conservarse siguiendo estrictamente las indicaciones del proveedor, por lo general, en frigorífico o en congelador.

El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) recomienda, para la mayoría de los microorganismos, utilizar, como medio de cultivo, caldo Mueller-Hinton, al que se añadirán los suplementos necesarios para asegurar el crecimiento de organismos exigentes. El medio debe tener un pH de 7,2 a 7,4 y estar ajustado en las concentraciones de iones calcio (20-25 mg/l) y magnesio (10-12,5 mg/l). Esta cantidad de iones divalentes asegura la reproducibilidad de los valores de CMI de aminoglucósidos y de tetraciclinas frente a la gran mayoría de microorganismos, al compararlos con los que se obtienen con agar Mueller-Hinton (Picazo, 2000).

Por su parte, para la realización del procedimiento de microdilución con daptomicina se ajustó la concentración de calcio del medio Mueller-Hinton a 50 mg/l (CLSI, 2007)

En nuestro caso, para el estudio de sensibilidad, se realizó un procedimiento de microdilución en caldo Mueller-Hinton ensayando diferentes antibióticos y diferentes concentraciones, para cada uno de ellos, dependiendo de la especie bacteriana.

Cada antibiótico fue disuelto en suero fisiológico, obteniéndose una dilución de almacenamiento que se conservó a -80° y se fue usando, sucesivamente, en los distintos ensayos.

Para obtener estas diluciones de almacenamiento se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos:

- La pureza de la sustancia activa suministrada por el fabricante:
  - Penicilina: 100%.
  - Ampicilina: 100%.
  - Oxacilina: 86,3%.

- Amoxicilina: 88,5%.
  - Clavulánico: 100%.
  - Cefazolina: 100%.
  - Cefotaxima: 100%.
  - Vancomicina: 100%
  - Teicoplanina: 89,3%.
  - Daptomicina: 100%
  - Gentamicina: 66,1%
  - Tobramicina: 67,1%
  - Kanamicina: 100%
  - Eritromicina: 95.4%
  - Clindamicina: 87,2%
  - Telitromicina: 51,5%
  - Levofloxacino: 100%.
  - Trimetoprim: 91%.
  - Sulfametoxazol: 57,3%.
  - Rifampicina: 50%.
  - Linezolid: 100%
- La menor dilución a ensayar para cada antibiótico, ya que, la dilución de almacenamiento, debe estar cuatro veces más concentrada que la menor de las diluciones.
  - El volumen mínimo de antibiótico en almacenamiento para realizar todos los ensayos, sin tener que reconstituir más antibiótico, para, de esta forma, mejorar la reproducibilidad del método. Se calculó multiplicando el volumen de antibiótico

que se usa para cada ensayo (50 µl) por el número total de aislados a ensayar de cada especie.

Para establecer las diluciones a ensayar con cada antibiótico, se tuvieron en cuenta los puntos de corte que definen las categorías clínicas de sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) según el CLSI (CLSI, 2007) para las tres especies y cada uno de los antibióticos (tablas 8, 9 y 10)

**Tabla 8:** Puntos de corte (en µg/ml) para *S. aureus* y los antibióticos ensayados

Antibiótico	Categoría clínica		
	R	I	S
<b>Penicilina</b>	≥ 0.25	ND	≤ 0.125
<b>Oxacilina</b>	≥ 4	ND	≤ 2
<b>Amoxicilina-clavulánico</b>	≥ 8/4	ND	≤ 4/2
<b>Cefazolina</b>	≥ 32	16	≤ 8
<b>Vancomicina</b>	≥ 16	4 - 8	≤ 2
<b>Teicoplanina</b>	≥ 32	16	≤ 8
<b>Daptomicina</b>	ND	ND	≤ 1
<b>Gentamicina</b>	≥ 16	8	≤ 4
<b>Tobramicina</b>	≥ 16	8	≤ 4
<b>Kanamicina</b>	≥ 64	32	≤ 16
<b>Eritromicina</b>	≥ 8	4 - 2 - 1	≤ 0.5
<b>Clindamicina</b>	≥ 4	2 - 1	≤ 0.5
<b>Telitromicina</b>	≥ 4	2	≤ 1
<b>Levofloxacino</b>	≥ 4	2	≤ 1
<b>Cotrimoxazol</b>	≥ 4/76	ND	≤ 2/38
<b>Rifampicina</b>	≥ 4	2	≤ 1
<b>Linezolid</b>	ND	ND	≤ 4

R: Resistente, I: Intermedio, S: Sensible, ND: No definido por el CLSI



**Tabla 9:** Puntos de corte (en µg/ml) para *Enterococcus* spp. y los antibióticos ensayados

Antibiótico	Categoría clínica		
	R	I	S
Ampicilina	≥ 16	ND	≤ 8
Vancomicina	≥ 32	16-8	≤ 4
Teicoplanina	≥ 32	16	≤ 8
Daptomicina	ND	ND	≤ 4
Gentamicina	ND	ND	ND
Levofloxacino	≥ 8	4	≤ 2
Linezolid	≥ 8	4	≤ 2

R: Resistente, I: Intermedio, S: Sensible, ND: No definido por el CLSI

**Tabla 10:** Puntos de corte (en µg/ml) para *S. agalactiae* y los antibióticos ensayados

Antibiótico	Categoría clínica		
	R	I	S
Ampicilina	ND	ND	≤ 0.25
Cefotaxima	ND	ND	≤ 0.5
Vancomicina	ND	ND	≤ 1
Teicoplanina	ND	ND	ND
Daptomicina	ND	ND	≤ 1
Gentamicina	ND	ND	ND
Eritromicina	≥ 1	0.5	≤ 0.25
Clindamicina	≥ 1	0.5	≤ 0.25
Levofloxacino	≥ 8	4	≤ 2
Linezolid	ND	ND	≤ 2

R: Resistente, I: Intermedio, S: Sensible, ND: No definido por el CLSI

Para todos los antibióticos se estableció un rango de 12 diluciones y un control positivo (sin antibiótico), y así, las diluciones ensayadas fueron las que se muestran en las tablas 11, 12, y 13.

Tabla 11: Rango de diluciones ensayadas para los diferentes antibióticos en *S. aureus*

Número del pocillo												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
<b>Penicilina</b>												
				<b>R</b>			<b>S</b>					
4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004	0,002	
<b>Oxacilina</b>												
				<b>R</b>			<b>S</b>					
32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	
<b>Amoxicilina-clavulánico</b>												
				<b>R</b>			<b>S</b>					
128/64	64/32	32/16	16/8	8/4	4/2	2/1	1/0,5	0,5/0,25	0,25/0,125	0,125/0,06	0,06/0,03	
<b>Cefazolina</b>												
			<b>R</b>	<b>I</b>			<b>S</b>					
256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	
<b>Vancomicina</b>												
				<b>R</b>	<b>I</b>	<b>I</b>	<b>S</b>					
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	
<b>Teicoplanina</b>												
		<b>R</b>	<b>I</b>			<b>S</b>						
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	
<b>Daptomicina</b>												
<b>S</b>												
2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004	0,002	0,001	
<b>Gentamicina</b>												
			<b>R</b>			<b>I</b>			<b>S</b>			
256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	
<b>Tobramicina</b>												
			<b>R</b>			<b>I</b>			<b>S</b>			
256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	
<b>Kanamicina</b>												
			<b>R</b>	<b>I</b>			<b>S</b>					
512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	
<b>Eritromicina</b>												
				<b>R</b>	<b>I</b>	<b>I</b>	<b>I</b>	<b>S</b>				
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	
<b>Clindamicina</b>												
				<b>R</b>	<b>I</b>	<b>I</b>	<b>S</b>					
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	
<b>Telitromicina</b>												
			<b>R</b>			<b>I</b>			<b>S</b>			
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	
<b>Levofloxacino</b>												
				<b>R</b>			<b>I</b>			<b>S</b>		
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	
<b>Cotrimoxazol</b>												
				<b>R</b>			<b>S</b>					
64/1216	32/608	16/304	8/152	4/76	2/38	1/19	0,5/9,5	0,25/4,75	0,125/2,375	0,06/1,1875	0,03/0,6	
<b>Rifampicina</b>												
			<b>R</b>	<b>I</b>			<b>S</b>					
32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	
<b>Linezolid</b>												
<b>S</b>												
8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004	

Tabla 12: Rango de diluciones ensayadas para los diferentes antibióticos en *Enterococcus* spp.

Número del pocillo											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Ampicilina</b>											
		<b>R</b>	<b>S</b>								
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<b>Vancomicina</b>											
	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>I</b>	<b>S</b>							
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<b>Teicoplanina</b>											
	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>S</b>								
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<b>Daptomicina</b>											
	<b>S</b>										
8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004
<b>Gentamicina</b>											
2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	1
<b>Levofloxacino</b>											
			<b>R</b>	<b>I</b>	<b>S</b>						
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<b>Linezolid</b>											
	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>S</b>								
8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004

R: Punto de corte para resistente, I: Punto de corte para intermedio, S: Punto de corte para sensible

Tabla 13: Rango de diluciones ensayadas para los diferentes antibióticos en *S. agalactiae*

Número del pocillo											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Ampicilina</b>											
S											
4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004	0,002
<b>Cefotaxima</b>											
S											
4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004	0,002
<b>Vancomicina</b>											
S											
8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004
<b>Teicoplanina</b>											
8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004
<b>Daptomicina</b>											
S											
2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004	0,002	0,001
<b>Gentamicina</b>											
256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125
<b>Eritromicina</b>											
R I S											
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<b>Clindamicina</b>											
R I S											
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<b>Levofloxacino</b>											
R I S											
64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03
<b>Linezolid</b>											
S											
8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	0,004

R: Punto de corte para resistente, I: Punto de corte para intermedio, S: Punto de corte para sensible

Para la realización del método de microdilución se sembraron los microorganismos en placas de agar sangre durante 24 horas a 37°C. Al día siguiente, y tras comprobar la pureza del aislado, se resuspendieron varias colonias en suero fisiológico, hasta obtener una turbidez coincidente con el patrón 0,5 de MacFarland ( $10^5$ - $10^6$  UFC/ml).

Para cada microorganismo ensayado se preparó un tubo que contenía caldo Mueller-Hinton (Becton Dickinson, E.E.U.U.). A continuación se realizó una

dilución al 1/100 del microorganismo suspendido en el suero fisiológico en el caldo Mueller-Hinton.

Se preparó una placa de microtitulación con fondo en “U”. En cada fila se realizaron las 12 diluciones para cada antibiótico.

En cada pocillo de la placa se dispensaron, inicialmente, 50 µl de caldo Mueller-Hinton. Posteriormente, en el primer pocillo de cada fila, se dispensaron 50 µl del antibiótico (concentración en almacenamiento). Se pipetearon 50 µl del pocillo 1 y se dispensaron en el pocillo 2. Se mezcló bien con la pipeta, se recogieron 50 µl del pocillo 2 y se dispensaron en el pocillo 3, y así, sucesivamente, hasta llegar al pocillo número 12, del cual se desecharon 50 µl. De esta forma, se diluyó el antibiótico en los sucesivos pocillos, obteniendo, en cada uno de ellos, una dilución que fue la mitad de la del pocillo anterior (diluciones crecientes en base 2).

Una vez realizada la dilución del antibiótico se dispensaron 50 µl de caldo Mueller-Hinton, con el microorganismo suspendido, en todos los pocillos. De esta forma, en cada pocillo, el volumen final obtenido fue de 100 µl, y la dilución final, la esperada, según las tablas 11, 12 y 13.

Como control positivo se utilizó el volumen restante de caldo Mueller-Hinton sembrado con el microorganismo.

Una vez inoculadas las placas, se incubaron a 37°C durante 24 horas, apiladas en torres de 5 placas y cubiertas con papel film, tiempo tras el cual se realizó la lectura, determinándose el valor de la CMI de cada antibiótico.

Para la realización del procedimiento de microdilución con oxacilina se tuvieron en cuenta dos aspectos fundamentales: Por un lado, se usó medio Mueller-Hinton suplementado en 2% con NaCl (0,34 mol/l), y por otro, las placas donde se

ensayó oxacilina se incubaron a 35°C. Estos dos procedimientos incrementan la capacidad de detección de resistencia a oxacilina en *S. aureus* (CLSI, 2007).

Se usaron, en todos los ensayos, las cepas de referencia aconsejadas por el CLSI (CLSI, 2007): *S. aureus* ATCC 29213 y *E. faecalis* ATCC 29212, controles para procedimientos de sensibilidad antibiótica en bacterias grampositivas aerobias. Además, la cepa de referencia *E. faecalis* ATCC 29212 se usó para determinar que el medio Mueller-Hinton no interfería con la actividad de cotrimoxazol.

### **PROCEDIMIENTOS DE DIFUSIÓN CON DISCO**

Para mejorar la capacidad de detección de resistencia a oxacilina, y para detectar los fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas, paralelamente a los procedimientos de microdilución descritos, se realizaron otros procedimientos de difusión con disco.

Éste es un procedimiento basado en la colocación de discos de papel de filtro que contienen una cantidad conocida de antimicrobiano en la superficie de una placa de medio de cultivo previamente inoculada con el microorganismo problema. Habitualmente, los discos tienen 6 mm de diámetro y se pueden colocar tantos como antibióticos se quieran estudiar, respetando siempre un número de discos por placa que permita leer los halos de inhibición sin que interfieran unos con otros. Cuando el disco entra en contacto con el medio de cultivo absorbe agua de éste e inmediatamente el antibiótico comienza a difundir de forma radial, formando un gradiente de concentración en el que ésta es, en cada punto, inversamente proporcional a la distancia hasta el borde del disco.

En aquellas zonas donde la concentración alcance un valor suficiente, el microorganismo previamente inoculado no podrá crecer, y tras un periodo de incubación adecuado aparecerá un halo de inhibición de crecimiento alrededor de los discos. El diámetro del halo de inhibición indica el grado de sensibilidad del microorganismo al correspondiente antibiótico.

Este método no permite establecer la CMI, al menos de forma directa. El CLSI ha establecido los puntos de corte en milímetros de los halos de inhibición de los antibióticos habitualmente usados en clínica que permiten establecer las categorías clínicas de sensible, intermedio y resistente.

Las ventajas del método de difusión con discos son su sencillez, flexibilidad y bajo coste, razones que han asegurado su permanencia durante años en los laboratorios. Si el método se estandariza correctamente su fiabilidad es muy elevada. Por otra parte, los halos de inhibición se pueden medir con menos de 0'5 mm de error y con  $\pm 2$  mm de reproductibilidad.

### **Detección de resistencia a meticilina en *S. aureus* (SAMR) por procedimientos de difusión con disco**

Considerando la posibilidad de que, al realizar el procedimiento de microdilución en *S. aureus*, el comportamiento de los antibióticos betalactámicos ensayados (penicilina, oxacilina, amoxicilina-clavulánico y cefazolina), *in vitro*, no correspondiese con el posible mecanismo de resistencia encontrado (por ejemplo, que el aislado fuese resistente a oxacilina y sensible, *in vitro*, a penicilina y/o amoxicilina-clavulánico y/o cefazolina), en aquellos aislados que presentaron discordancia entre la sensibilidad para estos antibióticos, además de repetir la

microdilución, se realizó un procedimiento de difusión con discos de oxacilina (1 µg) y cefoxitina (30 µg) en agar Mueller-Hinton (BioMérieux) previamente inoculado con una suspensión al 0,5 de McFarland del microorganismo.

Diversos estudios han justificado la mayor sensibilidad y especificidad, para la detección de SAMR, del uso combinado de ambos antibióticos en los procedimientos de difusión con disco (Swenson y cols., 2007).

Además, para detectar una posible hiperproducción de betalactamasa (que podría disminuir la actividad de oxacilina), se colocó también un disco de amoxicilina-clavulánico (20/10 µg) a unos 15 mm del disco de oxacilina. El ácido clavulánico es activo frente al enzima, de forma que, en caso de hiperproducción de la misma, aunque el halo de oxacilina fuese inferior al límite inferior, podría observarse sinergia con amoxicilina-clavulánico.

Los microorganismos se interpretaron como resistentes a oxacilina, y por tanto, se consideró al aislado como SAMR, cuando los halos fueron  $\leq 12$  mm para oxacilina y  $\leq 17$  mm para cefoxitina y no hubo sinergia con amoxicilina-clavulánico; y sensibles a meticilina cuando los halos fueron  $\geq 13$  mm para oxacilina y  $\geq 18$  mm para cefoxitina.

#### **Detección de fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas en *S. aureus***

El CLSI recomienda el método de difusión con doble disco para la detección de la resistencia inducible a clindamicina en *Staphylococcus* spp. (CLSI, 2007), debido a que la utilización de clindamicina en pacientes con infección por estafilococos con este tipo de resistencia, podría conducir a un posible fracaso



terapéutico por la aparición de resistencia a clindamicina durante el tratamiento (Merino-Díaz y cols., 2007).

Los métodos de microdilución no son procedimientos adecuados para ello, puesto que no ponen de manifiesto que los macrólidos (eritromicina) pueden inducir resistencia a lincosamidas (clindamicina), al ensayarse ambos antibióticos por separado.

Por eso, paralelamente al método de microdilución, en los aislados de *S. aureus*, se siguió un procedimiento de difusión con doble disco según las recomendaciones del CLSI (CLSI, 2007). Dicha técnica consistió en colocar un disco de eritromicina (15 µg) y otro de clindamicina (2 µg), separados por una distancia de 15-20 mm de borde a borde, en una placa de agar Mueller-Hinton previamente inoculada con una suspensión al 0,5 de McFarland del microorganismo. Tras incubar la placa 24 horas a 37°C, el achatamiento en la zona de inhibición de la clindamicina, próxima al disco de eritromicina, indica un fenotipo de resistencia inducible (iMLSB), la resistencia a eritromicina y a clindamicina indica un fenotipo de resistencia constitutivo (cMLSB). Los fenotipos más probables en *S. aureus* son (tabla 14):

**Tabla 14:** Posibles fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas en *S. aureus* según la interpretación del método de doble disco (halos en mm)

Fenotipo	Halo de eritromicina	Halo de clindamicina	Sinergia
<b>S</b>	≥ 23	≥ 21	No
<b>cMLSB</b>	≤ 22	≤ 20	No
<b>iMLSB</b>	≤ 22	≥ 21	Sí
<b>M</b>	≤ 22	≥ 21	No
<b>L</b>	≥ 23	≤ 20	No

S: sensible a macrólidos y lincosamidas, cMLSB: constitutivo, iMLSB: inducible, M: resistente a macrólidos de 14 y 15 átomos, L: resistente a lincosamidas

### **Detección de fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas en *S. agalactiae***

Del mismo modo que para *S. aureus*, y por las mismas razones, también para los aislados de *S. agalactiae* se realizó un procedimiento de difusión con doble disco de eritromicina y clindamicina.

La peculiaridad, en este caso, es que la técnica se realizó en placas de Mueller-Hinton suplementadas con 5% de sangre lisada de cordero, para favorecer el crecimiento de esta especie bacteriana, que no crece de forma óptima en Mueller-Hinton no suplementado (CLSI, 2007). En este caso, los fenotipos más probables son (tabla 15):

**Tabla 15:** Posibles fenotipos de resistencia a macrólidos y lincosamidas en *S. agalactiae* según la interpretación del método de doble disco (halos en mm)

Fenotipo	Halo de eritromicina	Halo de clindamicina	Sinergia
<b>S</b>	≥ 21	≥ 19	No
<b>cMLSB</b>	≤ 20	≤ 18	No
<b>iMLSB</b>	≤ 20	≥ 19	Sí
<b>M</b>	≤ 20	≥ 19	No

S: sensible a macrólidos y lincosamidas, cMLSB: constitutivo, iMLSB: inducible, M: resistente a macrólidos de 14 y 15 átomos, L: resistente a lincosamidas

## **ACTIVIDAD DE TIGECICLINA FRENTE A *S. aureus* Y *S. agalactiae* MEDIANTE PRUEBA DE EPSILON**

El estudio de la actividad de tigeciclina en las especies *S. aureus* y *S. agalactiae* se realizó entre aquellos aislados, de ambas especies, que presentaron, al menos, resistencia a uno de los antibióticos ensayados previamente por microdilución (salvo que, en *S. aureus*, dicho antibiótico fuese sólo penicilina), y sólo en aquellos que fueron identificados en el Servicio de Microbiología del HSC durante el año 2005.

La prueba de Epsilon o E-test se basa en el mismo fundamento de la difusión con disco pero, en este caso, se utilizan tiras de plástico no poroso de 5 cm de largo y 5 mm de ancho. La tira contiene un gradiente de concentración del antibiótico y una de las superficies de la tira tiene marcadas las distintas concentraciones del gradiente. Tras aplicar la tira a una placa previamente inoculada, e incubar ésta adecuadamente, la intersección de la elipse de crecimiento del microorganismo con la tira permite una determinación directa de la CMI. Diversos estudios han demostrado que, para la mayoría de los microorganismos de interés clínico, los valores de CMI obtenidos con este método son similares (en  $\pm 1$  dilución) a los que se obtienen con los métodos convencionales de dilución (Baker y cols., 1991).

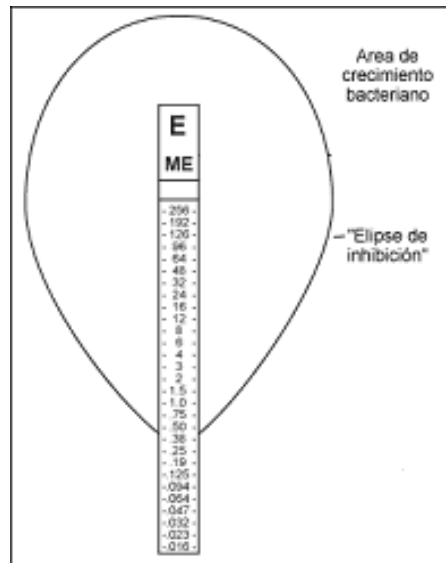
Para ello, se colocó, con ayuda de unas pinzas, una tira impregnada con tigeciclina (IZASA S.A., España), cuya concentración oscila entre 256  $\mu\text{g/ml}$  y 0,016  $\mu\text{g/ml}$ .

Los puntos de corte para definir la categoría clínica de Sensible (S) a tigeciclina en *S. aureus* (incluyendo SAMR) y a *Streptococcus* spp (no incluyendo *S.*

*pneumoniae*) por este procedimiento, según la Food and Drug Administration (FDA) son, respectivamente,  $\leq 0,5$   $\mu\text{g/ml}$  y  $\leq 0,25$   $\mu\text{g/ml}$  (Wyeth Pharmaceuticals, 2005)

La CMI fue interpretada como el punto de intersección de la elipse de inhibición del crecimiento con el borde de la tira, como muestra la figura 7.

**Figura 7:** Interpretación de la prueba de Epsilon



### **DETERMINACIÓN DE LA DOSIS DIARIA DEFINIDA (DDD)**

En el presente estudio, además, se relacionó la sensibilidad a los distintos grupos antibióticos ensayados por microdilución, de los aislados clínicos de *S. aureus* obtenidos durante el año 2005 en el Servicio de Microbiología del HSC, con las cifras de consumo (en DDD) de los principios activos más representativos de cada grupo entre los años 2004 y 2005.

Se han utilizado dos parámetros de consumo dependiendo del ámbito: DDD/1000 habitantes-día para hacer referencia al consumo extrahospitalario, y DDD/100 estancias en el caso del consumo hospitalario.

Los valores de DDD/1000 habitantes-día se obtuvieron mediante el programa informático de dispensación de recetas en oficinas de farmacia del Sistema Andaluz de Salud denominado MicroStrategy<sup>®</sup>. Los datos son los correspondientes a los años 2004 y 2005. Además, dicho programa nos ha suministrado los datos correspondientes a los dos distritos sanitarios (Distrito Granada y Distrito Metropolitano) en que está dividida la ciudad de Granada, así como los datos de las recetas prescritas en las consultas externas del Hospital San Cecilio. Hemos obtenido, por tanto, las DDD/1000 habitantes-día para los antibióticos seleccionados en el estudio.

En el caso del consumo de antibióticos en el propio Hospital San Cecilio, se han obtenido las DDD/100 estancias en el mismo periodo de tiempo y mediante el sistema informático Farmatools<sup>®</sup>. Este sistema informático, a diferencia de MicroStrategy<sup>®</sup>, nos proporciona los miligramos totales de antibiótico consumidos en el hospital y a continuación, aplicamos la fórmula vista anteriormente. El número de estancias hospitalarias que se han producido en el periodo de tiempo de estudio han sido proporcionadas por el sistema informático Archinet<sup>®</sup> del Servicio de Admisión del mismo hospital

Debido a que las resistencias bacterianas evolucionan a lo largo de un tiempo prolongado, el periodo de estudio en nuestro caso debería haber sido mayor. Sin embargo, anteriormente al año 2004 no existen datos de consumo debido a que la instalación del programa Farmatools<sup>®</sup> no se realizó hasta dicho año.

## **MÉTODO ESTADÍSTICO**

### **Comparación de la sensibilidad de los aislados en ambos hospitales**

Se utilizó la prueba exacta de Fisher para tablas  $r \times s$ , que queda en tablas  $2 \times 2$  en la prueba exacta clásica de Fisher, para comparar entre sí los aislados procedentes del HSC con los obtenidos en el HV, para cada una de las especies estudiadas. Dicha comparación se realizó, tanto en términos de categorías clínicas (considerando sensible *vs.* resistente) como considerando la distribución de CMIs, para cada uno de los antibióticos ensayados.

Se consideró como hipótesis nula ( $H_0$ ) la ausencia de diferencias entre los grupos comparados en cuanto a la variable analizada, e hipótesis alternativa ( $H_1$ ) la existencia de diferencia significativa entre los grupos en cuanto a la variable analizada.

### **Relación entre consumo de antibióticos y sensibilidad, en *S. aureus***

Para determinar la relación entre los valores de DDD de diversos antibióticos, en los años 2004 y 2005, y el porcentaje de aislados de *S. aureus*, sensibles a cada grupo de antibióticos, obtenidos durante el año 2005 en el HSC, se ha empleado una nube de puntos y, previa transformación de los datos de consumo por el logaritmo en base 10, se calculó la recta por mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación de Pearson.

# **RESULTADOS**

## SENSIBILIDAD DE LOS AISLADOS SEGÚN EL ENSAYO DE MICRODILUCIÓN

### *Staphylococcus aureus*

En la tabla 16 se muestran los valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y el porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado mediante microdilución, en los 367 aislados clínicos de *S. aureus*.

**Tabla 16:** Valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> (en µg/ml) y porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado, en los 367 aislados clínicos de *S. aureus*

Antibióticos	Rango	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Aislados sensibles (%)
Penicilina	0,008 - > 4	> 4	> 4	6,8
Oxacilina	≤ 0,015 - > 32	0,5	> 32	69,2
Amoxicilina-clavulánico	≤ 0,06/0,03 - > 128/64	2/1	64/32	69,2
Cefazolina	≤ 0,125 - > 256	0,5	> 256	69,2
Vancomicina	≤ 0,03 - 2	0,5	0,5	100
Teicoplanina	≤ 0,03 - 4	0,25	1	100
Daptomicina	0,008 - 1	0,25	0,5	100
Gentamicina	≤ 0,125 - > 256	0,5	64	81,5
Tobramicina	≤ 0,125 - > 256	2	> 256	65,9
Kanamicina	≤ 0,25 - > 512	4	> 512	65,9
Eritromicina	≤ 0,03 - > 64	0,25	> 64	62,9
Clindamicina	≤ 0,03 - > 64	0,06	> 64	77,4
Telitromicina	≤ 0,03 - > 64	≤ 0,03	> 64	75,7
Levofloxacino	≤ 0,03 - > 64	0,5	16	57,8
Cotrimoxazol	≤ 0,03/0,6 - > 64/1216	0,06/1,19	0,5/9,5	96,7
Rifampicina	≤ 0,015 - > 32	≤ 0,015	0,03	98,9
Linezolid	0,125 - 4	2	4	100

En las tablas 17 y 18 (y en sus anexos) aparece la distribución de aislados clínicos de esta especie que presentaron cada valor de CMI, en números absolutos y en porcentaje acumulado, respectivamente.



Tabla 17: Distribución, en números absolutos, de los 367 aislados clínicos de *S. aureus*, según cada valor de CMI

	CMI (µg/ml)																	
	≥ 512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	
<b>PEN</b>	296								12	10	14	5	5	5	5	10	4	1
<b>OXA</b>	89				3	11	6	4	27	33	27	56	49	36	2	24		
<b>CFZ</b>	43	6	17	28	18	1	8	8	13	35	105	64	21					
<b>VAN</b>									13	20	165	151	15	0	3			
<b>TEC</b>								2	11	32	80	84	79	30	49			
<b>DAP</b>										16	92	157	84	14	1	0	3	
<b>GM</b>	11	7	14	15	9	7	5	11	23	50	61	66	88					
<b>TO</b>	59	0	19	17	17	13	0	51	23	61	56	24	27					
<b>KM</b>	96	12	6	6	5	19	12	43	47	63	35	23						
<b>EM</b>	117			11	4	1	3	0	0	0	44	74	87	19	7			
<b>CC</b>	75			0	1	1	2	4	0	0	25	30	26	65	138			
<b>TEL</b>	71			1	5	3	3	2	4	5	12	9	14	29	209			
<b>LEV</b>	8			2	8	48	37	19	33	22	17	23	72	54	24			
<b>RD</b>	2				1	0	0	1	0	7	6	3	7	2	9	329		
<b>LNZ</b>									75	227	61	2	1	1	0			

PEN: Penicilina, OXA: Oxacilina, CFZ: Cefazolina, VAN: Vancomicina, TEC: Teicoplanina, DAP: Daptomicina, GM: Gentamicina, TO: Tobramicina, KM: Kanamicina, EM: Eritromicina, CC: Clindamicina, TEL: Telitromicina, LEV: Levofloxacino, RD: Rifampicina, LNZ: Linezolid

Tabla 17: Anexo I

CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) de amoxicilina-clavulánico											
$\geq 128/64$	64/32	32/16	16/8	8/4	4/2	2/1	1/0,5	0,5/0,25	0,25/0,125	0,125/0,06	$\leq 0,06/0,03$
21	30	21	18	23	66	56	37	33	18	7	37

Tabla 17: Anexo II

CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) de cotrimoxazol											
$\geq 64/1216$	32/608	16/304	8/152	4/76	2/38	1/19	0,5/9,5	0,25/4,75	0,125/2,375	0,06/1,1875	$\leq 0,03/0,6$
4	4	2	2	0	2	12	25	37	64	91	124

**Tabla 18:** Distribución, en porcentajes acumulados, de los 367 aislados clínicos de *S. aureus*, según cada valor de CMI

	CMI (µg/ml)																	
	≥ 512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	
<b>PEN</b>	100								19,3	16,1	13,4	9,5	8,2	6,8	5,4	4,1	1,4	0,3
<b>OXA</b>	100				75,7	74,9	71,9	70,3	69,2	61,9	52,9	45,5	30,2	16,9	7,1	6,5		
<b>CFZ</b>	100	88,3	86,6	82	74,4	69,5	69,2	67	64,9	61,3	51,8	23,1	5,7					
<b>VAN</b>									100	96,5	91	46	4,9	0,8	0,8			
<b>TEC</b>								100	99,5	96,5	87,7	65,9	43,1	21,5	13,4			
<b>DAP</b>										100	95,7	70,5	27,8	4,9	1,1	0,8	0,8	
<b>GM</b>	100	97	95,1	91,3	87,2	84,7	82,8	81,5	78,5	72,2	58,6	42	24					
<b>TO</b>	100	83,9	83,9	78,7	74,1	69,5	65,9	65,9	52	45,8	29,2	13,9	7,4					
<b>KM</b>	100	73,8	70,6	68,9	67,3	65,9	60,8	57,5	45,8	33	15,8	6,3						
<b>EM</b>	100			68,1	65,1	64	63,8	62,9	62,9	62,9	62,9	50,9	30,8	7,1	1,9			
<b>CC</b>	100			79,6	79,6	79,3	79	78,5	77,4	77,4	77,4	70,6	62,4	55,3	37,6			
<b>TEL</b>	100			80,7	80,4	79	78,2	77,4	76,8	75,7	74,4	71,1	68,7	64,9	56,9			
<b>LEV</b>	100			97,8	97,3	95,1	82	71,9	66,8	57,8	51,8	47,1	40,9	21,3	6,5			
<b>RD</b>	100				99,5	99,2	99,2	99,2	98,9	98,9	97	95,4	94,6	92,6	92,1	89,6		
<b>LNZ</b>								100	79,6	17,7	1,1	0,5	0,3	0				

PEN: Penicilina, OXA: Oxacilina, CFZ: Cefazolina, VAN: Vancomicina, TEC: Teicoplanina, DAP: Daptomicina, GM: Gentamicina, TO: Tobramicina, KM: Kanamicina, EM: Eritromicina, CC: Clindamicina, TEL: Telitromicina, LEV: Levofloxacinó, RD: Rifampicina, LNZ: Linezolid

**Tabla 18:** Anexo I

<b>CMI (µg/ml) de amoxicilina-clavulánico</b>											
<b>≥ 128/64</b>	<b>64/32</b>	<b>32/16</b>	<b>16/8</b>	<b>8/4</b>	<b>4/2</b>	<b>2/1</b>	<b>1/0,5</b>	<b>0,5/0,25</b>	<b>0,25/0,125</b>	<b>0,125/0,06</b>	<b>≤ 0,06/0,03</b>
100	94,3	86,1	80,4	75,5	69,2	51,2	36	25,9	16,9	12	10,1

**Tabla 18:** Anexo II

<b>CMI (µg/ml) de cotrimoxazol</b>											
<b>≥ 64/1216</b>	<b>32/608</b>	<b>16/304</b>	<b>8/152</b>	<b>4/76</b>	<b>2/38</b>	<b>1/19</b>	<b>0,5/9,5</b>	<b>0,25/4,75</b>	<b>0,125/2,375</b>	<b>0,06/1,1875</b>	<b>≤ 0,03/0,6</b>
100	98,9	97,8	97,3	96,7	96,7	96,2	92,9	86,1	76	58,6	33,8

Como hemos visto en la tabla 16, los glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina), daptomicina y linezolid fueron los únicos antibióticos activos frente al 100% de los aislados clínicos de *S. aureus* del presente estudio. Mostraron también una excelente actividad, si bien, no del 100%, pero muy cercana, tanto cotrimoxazol, como rifampicina (96,7% y 98,9% de aislados sensibles, respectivamente).

Frente a éstos, el antibiótico con menor actividad frente a *S. aureus* fue peniciclina (6,8% de aislados sensibles).

Entre los aminoglucósidos, gentamicina fue el que mostró mayor actividad (81,5% de aislados sensibles).

En la tabla 19 se muestran los valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y el porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado mediante microdilución, en los 280 aislados clínicos de *S. aureus* del HSC.

**Tabla 19:** Valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> (en µg/ml) y porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado, en los 280 aislados clínicos de *S. aureus* del HSC

<b>Antibióticos</b>	<b>Rango</b>	<b>CMI<sub>50</sub></b>	<b>CMI<sub>90</sub></b>	<b>Aislados sensibles (%)</b>
<b>Penicilina</b>	0,016 - > 4	> 4	> 4	7,5
<b>Oxacilina</b>	≤ 0,015 - > 32	1	> 32	65,7
<b>Amoxicilina-clavulánico</b>	≤ 0,06/0,03 - 128/64	4/2	64/32	65,7
<b>Cefazolina</b>	≤ 0,125 - > 256	1	> 256	65,7
<b>Vancomicina</b>	≤ 0,03 - 2	0,25	0,5	100
<b>Teicoplanina</b>	≤ 0,03 - 4	0,125	1	100
<b>Daptomicina</b>	0,008 - 1	0,25	0,5	100
<b>Gentamicina</b>	≤ 0,125 - > 256	0,5	64	77,9
<b>Tobramicina</b>	≤ 0,125 - > 256	4	> 256	62,5
<b>Kanamicina</b>	≤ 0,25 - > 512	4	> 512	62,5
<b>Eritromicina</b>	≤ 0,03 - > 64	0,5	> 64	58,9
<b>Clindamicina</b>	≤ 0,03 - > 64	0,125	> 64	73,2
<b>Telitromicina</b>	≤ 0,03 - > 64	0,06	> 64	70,4
<b>Levofloxacino</b>	≤ 0,03 - > 64	1	16	53,9
<b>Cotrimoxazol</b>	≤ 0,03/0,6 - > 64/1216	0,06/1,19	0,5/9,5	95,7
<b>Rifampicina</b>	≤ 0,015 - > 32	≤ 0,015	0,03	98,9
<b>Linezolid</b>	0,125 - 4	2	4	100

En las tablas 20 y 21 (y en sus anexos) aparece la distribución de aislados clínicos de esta especie que presentaron cada valor de CMI, en números absolutos y en porcentaje acumulado, respectivamente.

Tabla 20: Distribución, en números absolutos, de los 280 aislados clínicos de *S. aureus*, según cada valor de CMI (HSC)

	CMI (µg/ml)																	
	≥ 512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	
<b>PEN</b>	230							7	4	12	3	3	5	4	8	4	0	
<b>OXA</b>	75				2	11	4	4	25	30	17	39	32	31	2	8		
<b>CFZ</b>	41	5	14	21	14	1	8	7	12	26	64	50	17					
<b>VAN</b>									13	14	108	129	13	0	3			
<b>TEC</b>								2	10	22	46	59	70	25	46			
<b>DAP</b>										14	66	117	65	14	1	0	3	
<b>GM</b>	7	7	14	14	9	7	4	11	14	21	36	48	88					
<b>TO</b>	42	0	19	15	16	13	0	50	18	43	23	15	26					
<b>KM</b>	78	12	4	6	5	19	11	33	27	36	27	22						
<b>EM</b>	101			7	4	1	2	0	0	0	37	71	43	8	6			
<b>CC</b>	67			0	1	1	2	4	0	0	25	27	23	58	72			
<b>TEL</b>	67			1	5	2	2	2	4	5	12	9	10	24	137			
<b>LEV</b>	8			2	7	46	32	12	22	20	14	18	55	29	15			
<b>RD</b>	1				1	0	0	1	0	4	6	3	7	1	8	248		
<b>LNZ</b>									75	155	46	2	1	1	0			

PEN: Penicilina, OXA: Oxacilina, CFZ: Cefazolina, VAN: Vancomicina, TEC: Teicoplanina, DAP: Daptomicina, GM: Gentamicina, TO: Tobramicina, KM: Kanamicina, EM: Eritromicina, CC: Clindamicina, TEL: Telitromicina, LEV: Levofloxacino, RD: Rifampicina, LNZ: Linezolid

**Tabla 20: Anexo I**

<b>CMI (µg/ml) de amoxicilina-clavulánico</b>											
<b>≥ 128/64</b>	<b>64/32</b>	<b>32/16</b>	<b>16/8</b>	<b>8/4</b>	<b>4/2</b>	<b>2/1</b>	<b>1/0,5</b>	<b>0,5/0,25</b>	<b>0,25/0,125</b>	<b>0,125/0,06</b>	<b>≤ 0,06/0,03</b>
16	23	21	14	22	48	40	34	31	13	6	12

**Tabla 20: Anexo II**

<b>CMI (µg/ml) de cotrimoxazol</b>											
<b>≥ 64/1216</b>	<b>32/608</b>	<b>16/304</b>	<b>8/152</b>	<b>4/76</b>	<b>2/38</b>	<b>1/19</b>	<b>0,5/9,5</b>	<b>0,25/4,75</b>	<b>0,125/2,375</b>	<b>0,06/1,1875</b>	<b>≤ 0,03/0,6</b>
4	4	2	2	0	2	12	25	34	42	64	89



Tabla 21: Distribución, en porcentajes acumulados, de los 280 aislados clínicos de *S. aureus*, según cada valor de CMI (HSC)

	CMI (µg/ml)																	
	≥ 512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	
<b>PEN</b>	100								17,9	15,4	13,9	9,6	8,6	7,5	5,7	4,3	1,4	0
<b>OXA</b>	100				73,2	72,5	68,6	67,1	65,7	56,8	46,1	40	26,1	14,6	3,6	2,9		
<b>CFZ</b>	100	85,4	83,6	78,6	71,1	66,1	65,7	62,9	60,4	56,1	46,8	23,9	6,1					
<b>VAN</b>									100	95,4	90,4	51,8	5,7	1,1	1,1			
<b>TEC</b>								100	99,3	95,7	87,9	71,4	50,3	25,4	16,4			
<b>DAP</b>										100	95	71,4	29,7	6,5	1,5	1,1	1,1	
<b>GM</b>	100	97,5	95	90	85	81,8	79,3	77,9	73,9	68,9	61,4	48,6	31,4					
<b>TO</b>	100	85	85	78,2	72,9	67,1	62,5	62,5	44,6	38,2	22,9	14,6	9,3					
<b>KM</b>	100	72,1	67,9	66,4	64,3	62,5	55,7	51,8	40	30,4	17,5	7,9						
<b>EM</b>	100			63,9	61,4	60	59,6	58,9	58,9	58,9	58,9	45,7	20,4	5	2,1			
<b>CC</b>	100			76,1	76,1	75,7	75,4	74,6	73,2	73,2	73,2	64,3	54,6	46,4	25,7			
<b>TEL</b>	100			76,1	75,7	73,9	73,2	72,5	71,8	70,4	68,6	64,3	61,1	57,5	48,9			
<b>LEV</b>	100			97,1	96,4	93,9	77,5	66,1	61,8	53,9	46,8	41,8	35,4	15,7	5,4			
<b>RD</b>	100				99,6	99,3	99,3	99,3	98,9	98,9	97,5	95,4	94,3	91,8	91,4	88,6		
<b>LNZ</b>								100	73,2	17,9	1,4	0,7	0,4	0				

PEN: Penicilina, OXA: Oxacilina, CFZ: Cefazolina, VAN: Vancomicina, TEC: Teicoplanina, DAP: Daptomicina, GM: Gentamicina, TO: Tobramicina, KM: Kanamicina, EM: Eritromicina, CC: Clindamicina, TEL: Telitromicina, LEV: Levofloxacino, RD: Rifampicina, LNZ: Linezolid

**Tabla 21: Anexo I**

CMI (µg/ml) de amoxicilina-clavulánico											
≥ 128/64	64/32	32/16	16/8	8/4	4/2	2/1	1/0,5	0,5/0,25	0,25/0,125	0,125/0,06	≤ 0,06/0,03
100	94,3	86,1	78,6	73,6	65,7	48,6	34,3	22,1	11,1	6,4	4,3

**Tabla 21: Anexo II**

CMI (µg/ml) de cotrimoxazol											
≥ 64/1216	32/608	16/304	8/152	4/76	2/38	1/19	0,5/9,5	0,25/4,75	0,125/2,375	0,06/1,1875	≤ 0,03/0,6
100	98,6	97,1	96,4	95,7	95,7	95	90,7	81,8	69,6	54,6	31,8

En la tabla 22 se muestran los valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y el porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado mediante microdilución, en los 87 aislados clínicos de *S. aureus* del HV.

**Tabla 22:** Valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> (en µg/ml) y porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado, en los 87 aislados clínicos de *S. aureus* del HV

<b>Antibióticos</b>	<b>Rango</b>	<b>CMI<sub>50</sub></b>	<b>CMI<sub>90</sub></b>	<b>Aislados sensibles (%)</b>
<b>Penicilina</b>	0,008 - > 4	> 4	> 4	4,6
<b>Oxacilina</b>	≤ 0,015 - > 32	0,25	> 32	80,5
<b>Amoxicilina-clavulánico</b>	≤ 0,06/0,03 - > 128/64	2/1	64/32	80,5
<b>Cefazolina</b>	≤ 0,125 - > 256	0,5	64	80,5
<b>Vancomicina</b>	0,125 - 1	0,5	0,5	100
<b>Teicoplanina</b>	≤ 0,03 - 2	0,5	1	100
<b>Daptomicina</b>	0,125 - 1	0,25	0,5	100
<b>Gentamicina</b>	0,25 - > 256	1	2	93,1
<b>Tobramicina</b>	≤ 0,125 - > 256	1	> 256	77
<b>Kanamicina</b>	≤ 0,25 - > 512	2	> 512	77
<b>Eritromicina</b>	≤ 0,03 - > 64	0,125	> 64	75,9
<b>Clindamicina</b>	≤ 0,03 - > 64	≤ 0,03	0,25	90,8
<b>Telitromicina</b>	≤ 0,03 - > 64	≤ 0,03	0,125	93,1
<b>Levofloxacino</b>	≤ 0,03 - 32	0,125	4	70,1
<b>Cotrimoxazol</b>	≤ 0,03/0,6 - 0,25/4,75	0,06/1,19	0,125/2,4	100
<b>Rifampicina</b>	≤ 0,015 - > 32	≤ 0,015	≤ 0,015	98,9
<b>Linezolid</b>	1 - 2	2	2	100

En las tablas 23 y 24 (y en sus anexos) aparece la distribución de aislados clínicos de esta especie que presentaron cada valor de CMI, en números absolutos y en porcentaje acumulado, respectivamente.

Tabla 23: Distribución, en números absolutos, de los 87 aislados clínicos de *S. aureus*, según cada valor de CMI (HV)

	CMI (µg/ml)																	
	≥ 512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	
<b>PEN</b>	66								5	6	2	2	2	0	1	2	0	1
<b>OXA</b>	14				1	0	2	0	2	3	10	17	17	5	0	16		
<b>CFZ</b>	2	1	3	7	4	0	0	1	1	9	41	14	4					
<b>VAN</b>										6	57	22	2	0				
<b>TEC</b>									1	10	34	25	9	5	3			
<b>DAP</b>										2	26	40	19	0	0	0	0	
<b>GM</b>	4	0	0	1	0	0	1	0	9	29	25	18	0					
<b>TO</b>	17	0	0	2	1	0	0	1	5	18	33	9	1					
<b>KM</b>	18	0	2	0	0	0	1	10	20	27	8	1						
<b>EM</b>	16			4	0	0	1	0	0	0	7	3	44	11	1			
<b>CC</b>	8			0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	7	66			
<b>TEL</b>	4			0	0	1	1	0	0	0	0	0	4	5	72			
<b>LEV</b>					1	2	5	7	11	2	3	5	17	25	9			
<b>RD</b>	1			0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	1	1	81		
<b>LNZ</b>									72	15	0							

PEN: Penicilina, OXA: Oxacilina, CFZ: Cefazolina, VAN: Vancomicina, TEC: Teicoplanina, DAP: Daptomicina, GM: Gentamicina, TO: Tobramicina, KM: Kanamicina, EM: Eritromicina, CC: Clindamicina, TEL: Telitromicina, LEV: Levofloxacino, RD: Rifampicina, LNZ: Linezolid

Tabla 23: Anexo I

CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) de amoxicilina-clavulánico											
$\geq 128/64$	64/32	32/16	16/8	8/4	4/2	2/1	1/0,5	0,5/0,25	0,25/0,125	0,125/0,06	$\leq 0,06/0,03$
5	7	0	4	1	18	16	3	2	5	1	25

Tabla 23: Anexo II

CMI ( $\mu\text{g/ml}$ ) de cotrimoxazol											
$\geq 64/1216$	32/608	16/304	8/152	4/76	2/38	1/19	0,5/9,5	0,25/4,75	0,125/2,375	0,06/1,1875	$\leq 0,03/0,6$
0	0	0	0	0	0	0	0	3	22	27	35

Tabla 24: Distribución, en porcentajes acumulados, de los 87 aislados clínicos de *S. aureus*, según cada valor de CMI (HV)

	CMI (µg/ml)																	
	≥ 512	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,016	0,008	
<b>PEN</b>	100								24,1	18,4	11,5	9,2	6,9	4,6	4,6	3,4	1,1	1,1
<b>OXA</b>	100				83,9	82,8	82,8	80,5	80,5	78,2	74,7	63,2	43,7	24,1	18,4	18,4		
<b>CFZ</b>	100	97,7	96,6	93,1	85,1	80,5	80,5	80,5	79,3	78,2	67,8	20,7	4,6					
<b>VAN</b>										100	93,1	27,6	2,3	0				
<b>TEC</b>									100	98,9	87,4	48,3	19,5	9,2	3,4			
<b>DAP</b>										100	97,7	67,8	21,9	0	0	0	0	
<b>GM</b>	100	95,4	95,4	95,4	94,3	94,3	94,3	93,1	93,1	82,8	49,4	20,7	0					
<b>TO</b>	100	80,5	80,5	80,5	78,2	77	77	77	75,9	70,1	49,4	11,5	1,1					
<b>KM</b>	100	79,3	79,3	77	77	77	77	75,9	64,4	41,4	10,3	1,1						
<b>EM</b>	100			81,6	77	77	77	75,9	75,9	75,9	75,9	67,8	64,4	13,8	1,1			
<b>CC</b>	100			90,8	90,8	90,8	90,8	90,8	90,8	90,8	90,8	90,8	87,4	83,9	75,9			
<b>TEL</b>	100			95,4	95,4	95,4	94,3	93,1	93,1	93,1	93,1	93,1	93,1	88,5	82,8			
<b>LEV</b>					100	98,9	96,6	90,8	82,8	70,1	67,8	64,4	58,6	39,1	10,3			
<b>RD</b>	100				98,9	98,9	98,9	98,9	98,9	98,9	95,4	95,4	95,4	95,4	94,3	93,1		
<b>LNZ</b>									100	17,2	0							

PEN: Penicilina, OXA: Oxacilina, CFZ: Cefazolina, VAN: Vancomicina, TEC: Teicoplanina, DAP: Daptomicina, GM: Gentamicina, TO: Tobramicina, KM: Kanamicina, EM: Eritromicina, CC: Clindamicina, TEL: Telitromicina, LEV: Levofloxacino, RD: Rifampicina, LNZ: Linezolid

**Tabla 24: Anexo I**

<b>CMI (µg/ml) de amoxicilina-clavulánico</b>											
<b>≥ 128/64</b>	<b>64/32</b>	<b>32/16</b>	<b>16/8</b>	<b>8/4</b>	<b>4/2</b>	<b>2/1</b>	<b>1/0,5</b>	<b>0,5/0,25</b>	<b>0,25/0,125</b>	<b>0,125/0,06</b>	<b>≤ 0,06/0,03</b>
100	94,3	86,2	86,2	81,6	80,5	59,8	41,4	37,9	35,6	29,9	28,7

**Tabla 24: Anexo II**

<b>CMI (µg/ml) de cotrimoxazol</b>			
<b>0,25/4,75</b>	<b>0,125/2,375</b>	<b>0,06/1,1875</b>	<b>≤ 0,03/0,6</b>
100	96,6	71,3	40,2

En la tabla 25 comparamos la actividad de los diferentes antibióticos ensayados frente a *S. aureus*. Para ello, se compara, entre ambos hospitales, el porcentaje de aislados sensibles y resistentes (valor estadístico *p* según la categoría clínica), y la distribución porcentual de aislados para cada valor de CMI (valor estadístico *p* según la CMI).

**Tabla 25:** Comparación, entre ambos hospitales, de la actividad de los diferentes antibióticos ensayados frente a los aislados clínicos de *S. aureus*

Antibióticos	HSC			HV			<i>p</i> (CC)	<i>p</i> (CMI)
	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Aislados sensibles (%)	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Aislados sensibles (%)		
Penicilina	> 4	> 4	7,5	> 4	> 4	4,6	0,4675	0,4308
Oxacilina	1	> 32	65,7	0,25	> 32	80,5	<b>0,0112</b>	<b>0,0000</b>
Amoxicilina-clavulánico	4/2	64/32	65,7	2/1	64/32	80,5	<b>0,0112</b>	<b>0,0001</b>
Cefazolina	1	> 256	65,7	0,5	64	80,5	<b>0,0112</b>	<b>0,0017</b>
Vancomicina	0,25	0,5	100	0,5	0,5	100	1,0000	0,0606
Teicoplanina	0,125	1	100	0,5	1	100	1,0000	<b>0,0000</b>
Daptomicina	0,25	0,5	100	0,25	0,5	100	1,0000	0,4632
Gentamicina	0,5	64	77,9	1	2	93,1	<b>0,0008</b>	0,2920
Tobramicina	4	> 256	62,5	1	> 256	77	<b>0,0138</b>	0,1056
Kanamicina	4	> 512	62,5	2	> 512	77	<b>0,0138</b>	0,0659
Eritromicina	0,5	> 64	58,9	0,125	> 64	75,9	<b>0,005</b>	<b>0,0004</b>
Clindamicina	0,125	> 64	73,2	≤ 0,03	0,25	90,8	<b>0,0004</b>	<b>0,0000</b>
Telitromicina	0,06	> 64	70,4	≤ 0,03	0,125	93,1	<b>0,0000</b>	<b>0,0000</b>
Levofloxacino	1	16	53,9	0,125	4	70,1	<b>0,0002</b>	<b>0,0000</b>
Cotrimoxazol	0,06/1,19	0,5/9,5	95,7	0,06/1,19	0,125/2,4	100	0,0769	<b>0,0002</b>
Rifampicina	≤ 0,015	0,03	98,9	≤ 0,015	≤ 0,015	98,9	1,0000	0,3188
Linezolid	2	4	100	2	2	100	1,0000	<b>0,0053</b>



Podemos observar que, para *S. aureus*, no hubo diferencias significativas en la sensibilidad de los aislados a penicilina, vancomicina, daptomicina y rifampicina, entre los dos hospitales.

Sí hubo diferencias significativas en la sensibilidad a oxacilina, amoxicilina-clavulánico, cefazolina, eritromicina, clindamicina, telitromicina y levofloxacino. Para estos antibióticos, los aislados de *S. aureus* procedentes del HV fueron más sensibles que los del HSC.

Por otro lado, aunque no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la actividad de teicoplanina, cotrimoxazol y linezolid, analizados por categoría clínica, sí las hubo desde el punto de vista de la distribución de las CMIs. Así, los aislados fueron más sensibles a teicoplanina en el HSC que en el HV, y al contrario, para los otros dos antibióticos.

En el caso de los aminoglucósidos, como vemos, al realizar el test estadístico que compara la categoría clínica obtenemos significación, hecho que no ocurre cuando comparamos, con un test diferente, los valores de CMI. Ello, sin duda, es debido a la dispersión de la distribución de las CMIs, que hace que la varianza de las CMIs, en algún grupo, sea muy grande, impidiendo la significación. En lugar de despreciar esos datos extremos se han conservado, aún a riesgo de obtener no significación.

**Resistencia a betalactámicos en *S. aureus***

Tras la realización del procedimiento de microdilución, hubo 33 aislados de *S. aureus* que presentaron discordancia, *in vitro*, entre los resultados para oxacilina y los de amoxicilina-clavulánico y cefazolina. Todos los aislados fueron resistentes a oxacilina, 15 fueron sensibles a amoxicilina-clavulánico y a cefazolina, y 18 fueron resistentes a amoxicilina-clavulánico y sensibles a cefazolina. Tras repetir la microdilución, paralelamente al procedimiento de difusión con discos de oxacilina, cefoxitina y amoxicilina-clavulánico, los 33 aislados confirmaron ser meticilin-resistentes. No se confirmó ningún caso de hiperproducción de betalactamasa.

En la tabla 26 se muestra la distribución de los aislados de *S. aureus* según la categoría clínica para cada uno de los antibióticos betalactámicos ensayados en este estudio.

**Tabla 26:** Distribución de los aislados de *S. aureus* según su sensibilidad a los antibióticos betalactámicos

<b>Penicilina</b>	<b>Oxacilina</b>	<b>Amoxicilina-clavulánico</b>	<b>Cefazolina</b>	<b>Fenotipos</b>	<b>Porcentaje</b>
S	S	S	S	Sensible	6,8%
R	S	S	S	Penicilinasa	62,4%
R	R	R	R	SAMR	30,8%

S: Sensible, R: Resistente

**Resistencia a macrólidos y lincosamidas en *S. aureus***

En las tablas 27 y 28 se muestra la distribución de los aislados de *S. aureus*, en números absolutos y en porcentaje, respectivamente, según el fenotipo de resistencia a macrólidos y lincosamidas obtenido por el procedimiento de difusión con discos de eritromicina y clindamicina.

**Tabla 27:** Distribución de los aislados de *S. aureus*, en números absolutos, según el fenotipo de resistencia a macrólidos y lincosamidas

<b>Fenotipo</b>	<b>Total de los aislados</b>	<b>Aislados del HSC</b>	<b>Aislados del HV</b>
<b>S</b>	230	164	66
<b>cMLSB</b>	82	74	8
<b>iMLSB</b>	19	12	7
<b>M</b>	35	29	6
<b>L</b>	1	1	0

S: sensible a macrólidos y lincosamidas, cMLSB: constitutivo, iMLSB: inducible, M: resistente a macrólidos de 14 y 15 átomos, L: resistente a lincosamidas

**Tabla 28:** Distribución de los aislados de *S. aureus*, en porcentaje, según el fenotipo de resistencia a macrólidos y lincosamidas

<b>Fenotipo</b>	<b>Total de los aislados</b>	<b>Aislados del HSC</b>	<b>Aislados del HV</b>
<b>S</b>	62,7	58,6	75,9
<b>cMLSB</b>	22,3	26,4	9,2
<b>iMLSB</b>	5,2	4,3	8
<b>M</b>	9,5	10,3	6,9
<b>L</b>	0,3	0,4	0

S: sensible a macrólidos y lincosamidas, cMLSB: constitutivo, iMLSB: inducible, M: resistente a macrólidos de 14 y 15 átomos, L: resistente a lincosamidas

Cabe destacar el menor porcentaje de aislados de *S. aureus* con fenotipo inducible frente al constitutivo, en ambos hospitales.

*Resistencia a aminoglucósidos en S. aureus*

En las tablas 29, 30 y 31 se muestran los fenotipos de resistencia a aminoglucósidos en los aislados de *S. aureus* (en el total de ellos, en los procedentes de HSC y en los procedentes de HV, respectivamente).

**Tabla 29:** Fenotipos de resistencia a aminoglucósidos en los 367 aislados de *S. aureus*

Gentamicina		Kanamicina		Tobramicina	
S	299	S	242	S	242
		I	2	R	2
		R	55	R	55
I	5	R	5	R	5
R	63	I	3	R	63
		R	60		

S: Sensible, I: Intermedio, R: Resistente

**Tabla 30:** Fenotipos de resistencia a aminoglucósidos en los 280 aislados de *S. aureus* del HSC

Gentamicina		Kanamicina		Tobramicina	
S	218	S	175	S	175
		I	2	R	2
		R	41	R	41
I	4	R	4	R	4
R	58	I	3	R	58
		R	55		

S: Sensible, I: Intermedio, R: Resistente

**Tabla 31:** Fenotipos de resistencia a aminoglucósidos en los 87 aislados de *S. aureus* del HV

Gentamicina		Kanamicina		Tobramicina	
S	81	S	67	S	67
		R	14	R	14
I	1	R	1	R	1
R	5	I	0	R	5
		R	5		

S: Sensible, I: Intermedio, R: Resistente

Como se puede apreciar, el fenotipo sensible fue el más frecuente en *S. aureus*, en ambos hospitales.

### ***Enterococcus* spp.**

En la tabla 32 se muestran los valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y el porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado mediante microdilución, en los 192 aislados clínicos de *Enterococcus* spp.

**Tabla 32:** Valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> (en µg/ml) y porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado, en los 192 aislados clínicos de *Enterococcus* spp.

Antibióticos	Rango	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Aislados sensibles (%)
Ampicilina	≤ 0,03 - 8	1	2	100
Vancomicina	0,25 - 4	0,5	1	100
Teicoplanina	≤ 0,03 - 0,5	≤ 0,03	0,125	100
Daptomicina	0,25 - 4	2	4	100
Gentamicina	2 - > 2048	16	> 2048	ND
Levofloxacino	0,125 - > 64	1	32	70,3
Linezolid	0,008 - 2	2	2	100

ND: El CLSI no define los puntos de corte para este antibiótico en esta especie

Como se aprecia en la tabla 32, ampicilina, los glucopeptidos, daptomicina y linezolid fueron activos frente al 100% de los aislados clínicos de *Enterococcus* spp. del presente estudio.

En las tablas 33 y 34 (y en sus anexos) aparece la distribución de aislados clínicos de esta especie que presentaron cada valor de CMI, en números absolutos y en porcentaje acumulado, respectivamente.

Tabla 33: Distribución, en números absolutos, de los 192 aislados clínicos de *Enterococcus* spp., según cada valor de CMI

	CMI (µg/ml)													
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008
<b>Ampicilina</b>				1	3	30	91	26	2	14	15	10		
<b>Vancomicina</b>					1	10	82	72	27	0				
<b>Teicoplanina</b>								3	9	26	22	132		
<b>Daptomicina</b>					51	98	34	8	1	0				
<b>Levofloxacino</b>	19	23	10	5	0	25	43	49	16	2	0			
<b>Linezolid</b>						160	30	0	0	1	0	0	0	1

Tabla 33: Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	
54	2	1	4	3	1	7	40	63	15	2	

**Tabla 34:** Distribución, en porcentajes acumulados, de los 192 aislados clínicos de *Enterococcus* spp., según cada valor de CMI

	CMI (µg/ml)													
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008
<b>Ampicilina</b>				100	99,5	97,9	82,3	34,9	21,4	20,3	13	5		
<b>Vancomicina</b>					100	99,5	94,2	51,6	14	0				
<b>Teicoplanina</b>								100	98,4	93,8	80,2	68,8		
<b>Daptomicina</b>					100	73,5	22,4	4,7	0,5	0				
<b>Levofloxacino</b>	100	90,1	78,1	73	70,3	70,3	57,3	34,9	9,4	1	0			
<b>Linezolid</b>						100	16,7	1	1	1	0,5	0,5	0,5	0,5

**Tabla 34:** Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	
100	71,9	70,8	70,3	68,2	66,7	66,1	62,5	41,7	8,9	1	



En la tabla 35 se muestran los valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y el porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado mediante microdilución, en los 59 aislados clínicos de *Enterococcus* spp del HSC.

**Tabla 35:** Valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> (en µg/ml) y porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado, en los 59 aislados clínicos de *Enterococcus* spp del HSC

<b>Antibióticos</b>	<b>Rango</b>	<b>CMI<sub>50</sub></b>	<b>CMI<sub>90</sub></b>	<b>Aislados sensibles (%)</b>
<b>Ampicilina</b>	≤ 0,03 - 8	0,125	1	100
<b>Vancomicina</b>	0,25 - 2	1	2	100
<b>Teicoplanina</b>	≤ 0,03 - 0,5	≤ 0,03	0,125	100
<b>Daptomicina</b>	0,5 - 4	2	4	100
<b>Gentamicina</b>	2 - > 2048	16	> 2048	ND
<b>Levofloxacino</b>	0,125 - > 64	2	32	61
<b>Linezolid</b>	0,008 - 2	2	2	100

ND: El CLSI no define los puntos de corte para este antibiótico en esta especie

En las tablas 36 y 37 (y en sus anexos) aparece la distribución de aislados clínicos de esta especie que presentaron cada valor de CMI, en números absolutos y en porcentaje acumulado, respectivamente.

**Tabla 36:** Distribución, en números absolutos, de los 59 aislados clínicos de *Enterococcus* spp., según cada valor de CMI (HSC)

	CMI (µg/ml)													
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008
<b>Ampicilina</b>				1	2	1	5	9	2	14	15	10		
<b>Vancomicina</b>						6	24	23	6	0				
<b>Teicoplanina</b>								2	3	9	2	43		
<b>Daptomicina</b>					7	39	11	2	0					
<b>Levofloxacino</b>	5	11	6	1	0	14	8	11	2	1	0			
<b>Linezolid</b>						45	13	0	0	0	0	0	0	1

**Tabla 36:** Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	
16	1	1	3	1	1	2	5	21	7	1	

Tabla 37: Distribución, en porcentajes acumulados, de los 59 aislados clínicos de *Enterococcus* spp., según cada valor de CMI (HSC)

	CMI (µg/ml)														
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008	
<b>Ampicilina</b>				100	98,3	94,9	93,2	84,7	69,5	66,1	42,4	16,7			
<b>Vancomicina</b>						100	89,8	49,2	10,2	0					
<b>Teicoplanina</b>								100	96,6	91,5	76,3	72,9			
<b>Daptomicina</b>					100	88,1	22	3,4	0						
<b>Levofloxacino</b>	100	91,5	72,9	62,7	61	61	37,3	23,7	5,1	1,7	0				
<b>Linezolid</b>						100	23,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	

Tabla 37: Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina										
≥ 2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2
100	72,9	71,2	69,5	64,4	62,7	61	57,6	49,2	13,6	1,7

En la tabla 38 se muestran los valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y el porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado mediante microdilución, en los 133 aislados clínicos de *Enterococcus* spp del HV.

**Tabla 38:** Valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> (en µg/ml) y porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado, en los 133 aislados clínicos de *Enterococcus* spp del HV

<b>Antibióticos</b>	<b>Rango</b>	<b>CMI<sub>50</sub></b>	<b>CMI<sub>90</sub></b>	<b>Aislados sensibles (%)</b>
<b>Ampicilina</b>	0,5 - 4	1	2	100
<b>Vancomicina</b>	0,25 - 4	0,5	1	100
<b>Teicoplanina</b>	≤ 0,03 - 0,5	≤ 0,03	0,125	100
<b>Daptomicina</b>	0,25 - 4	2	4	100
<b>Gentamicina</b>	2 - > 2048	16	> 2048	ND
<b>Levofloxacino</b>	0,125 - > 64	1	64	74,4
<b>Linezolid</b>	0,125 - 2	2	2	100

ND: El CLSI no define los puntos de corte para este antibiótico en esta especie

En las tablas 39 y 40 (y en sus anexos) aparece la distribución de aislados clínicos de esta especie que presentaron cada valor de CMI, en números absolutos y en porcentaje acumulado, respectivamente.

**Tabla 39:** Distribución, en números absolutos, de los 133 aislados clínicos de *Enterococcus* spp., según cada valor de CMI (HV)

	CMI (µg/ml)													
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008
<b>Ampicilina</b>					1	29	86	17	0					
<b>Vancomicina</b>					1	4	58	49	21	0				
<b>Teicoplanina</b>								1	6	17	20	89		
<b>Daptomicina</b>					44	59	23	6	1	0				
<b>Levofloxacino</b>	14	12	4	4	0	11	35	38	14	1	0			
<b>Linezolid</b>						115	17	0	0	1	0			

**Tabla 39:** Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	
38	1	0	1	2	0	5	35	42	8	1	

**Tabla 40:** Distribución, en porcentajes acumulados, de los 133 aislados clínicos de *Enterococcus* spp., según cada valor de CMI (HV)

	CMI (µg/ml)													
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008
<b>Ampicilina</b>					100	99,2	77,4	12,8	0					
<b>Vancomicina</b>					100	99,2	96,2	52,6	15,8	0				
<b>Teicoplanina</b>								100	99,2	94,7	82	66,9		
<b>Daptomicina</b>					100	66,9	22,6	5,3	0,8	0				
<b>Levofloxacino</b>	100	89,5	80,5	77,4	74,4	74,4	66,2	39,8	11,3	0,8	0			
<b>Linezolid</b>						100	13,5	0,8	0,8	0,8	0			

**Tabla 40:** Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 2048	1024	512	256	128	64	32	16	8	4	2	
100	71,4	70,7	70,7	69,9	68,4	68,4	64,7	38,3	6,8	0,8	

En la tabla 41 comparamos la actividad de los diferentes antibióticos ensayados frente a *Enterococcus* spp. Para ello, se compara, entre ambos hospitales, el porcentaje de aislados sensibles y resistentes (valor estadístico *p* según la categoría clínica), y la distribución porcentual de aislados para cada valor de CMI (valor estadístico *p* según la CMI).

**Tabla 41:** Comparación, entre ambos hospitales, de la actividad de los diferentes antibióticos ensayados frente a los aislados clínicos de *Enterococcus* spp.

Antibióticos	HSC			HV			<i>p</i> (CC)	<i>p</i> (CMI)
	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Aislados sensibles (%)	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Aislados sensibles (%)		
<b>Ampicilina</b>	0,125	1	100	1	2	100	1,0000	<b>0,0000</b>
<b>Vancomicina</b>	1	2	100	0,5	1	100	1,0000	0,3948
<b>Teicoplanina</b>	≤ 0,03	0,125	100	≤ 0,03	0,125	100	1,0000	0,9033
<b>Daptomicina</b>	2	4	100	2	4	100	1,0000	0,6519
<b>Gentamicina</b>	16	> 2048	ND	16	> 2048	ND	ND	0,8816
<b>Levofloxacino</b>	2	32	61	1	64	74,4	0,0862	<b>0,0260</b>
<b>Linezolid</b>	2	2	100	2	2	100	1,0000	0,0828

ND: El CLSI no define los puntos de corte para este antibiótico en esta especie

La actividad de los antibióticos ensayados en los aislados clínicos de *Enterococcus* spp. procedentes del Hospital San Cecilio de Granada, frente a los obtenidos en el Hospital Nuestra Señora de Valme de Sevilla, es similar. Como dato más significativo podemos observar diferencias en la distribución de CMIs en ampicilina y levofloxacino.

***Streptococcus agalactiae***

En la tabla 42 se muestran los valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y el porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado mediante microdilución, en los 441 aislados clínicos de *S. agalactiae*.

**Tabla 42:** Valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> (en µg/ml) y porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado, en los 441 aislados clínicos de *S. agalactiae*

Antibióticos	Rango	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Aislados sensibles (%)
Ampicilina	0,008 - 0,25	0,06	0,125	100
Cefotaxima	0,008 - 0,5	0,03	0,06	100
Vancomicina	0,5 - 1	1	1	100
Teicoplanina	≤ 0,004 - 0,5	≤ 0,004	0,125	ND
Daptomicina	0,004 - 1	0,06	0,5	100
Gentamicina	≤ 0,125 - > 256	4	8	ND
Eritromicina	≤ 0,03 - > 64	≤ 0,03	> 64	78,5
Clindamicina	≤ 0,03 - > 64	≤ 0,03	> 64	80,3
Levofloxacino	0,06 - 32	0,5	1	98,4
Linezolid	0,5 - 1	1	2	100

ND: El CLSI no define los puntos de corte para este antibiótico en esta especie

Entre los aislados de *S. agalactiae* estudiados, observamos que el 100% fueron sensibles a ampicilina, cefotaxima, vancomicina, daptomicina y linezolid. También mostró una excelente actividad, si bien, no del 100%, pero muy cercana, levofloxacino (98,4% de aislados sensibles).

En las tablas 43 y 44 (y en sus anexos) aparece la distribución de aislados clínicos de esta especie que presentaron cada valor de CMI, en números absolutos y en porcentaje acumulado, respectivamente.



Tabla 43: Distribución, en números absolutos, de los 441 aislados clínicos de *S. agalactiae*, según cada valor de CMI

	CMI (µg/ml)														
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008	≤ 0,004
Ampicilina									1	52	218	143	23	4	0
Cefotaxima								1	2	8	38	240	138	14	0
Vancomicina							234	207	0						
Teicoplanina								4	20	38	33	24	17	13	292
Daptomicina							21	24	71	102	61	25	37	61	39
Eritromicina	71	1	2	2	8	9	2	0	22	18	17	289			
Clindamicina	78	2	2	1	1	1	1	0	8	16	15	316			
Levofloxacino		1	0	2	4	11	53	245	115	9	1	0			
Linezolid						104	292	45	0						

Tabla 43: Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 256	128	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	≤ 0,125	
2	1	2	24	158	173	63	8	2	0	8	

Tabla 44: Distribución, en porcentajes acumulados, de los 441 aislados clínicos de *S. agalactiae*, según cada valor de CMI

	CMI (µg/ml)														
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008	≤ 0,004
<b>Ampicilina</b>									100	99,8	88	38,5	6,1	0,9	0
<b>Cefotaxima</b>								100	99,8	99,3	97,5	89	34,5	3,2	0
<b>Vancomicina</b>							100	46,9	0						
<b>Teicoplanina</b>								100	99,1	94,6	85,9	78,5	73	69,2	66,2
<b>Daptomicina</b>							100	95,2	89,8	73,6	50,5	36,7	31	22,6	8,8
<b>Eritromicina</b>	100	83,7	83,4	83	82,5	80,7	78,7	78,2	78,2	73,5	69,4	65,5			
<b>Clindamicina</b>	100	82,1	81,6	81,2	80,9	80,7	80,5	80,3	80,3	78,7	75,1	71,7			
<b>Levofloxacino</b>		100	99,8	99,8	99,3	98,4	95,9	83,9	28,3	2,3	0,2	0			
<b>Linezolid</b>						100	76,4	10,2	0						

Tabla 44: Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 256	128	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	≤ 0,125	
100	99,5	99,3	98,9	93,4	57,6	18,4	4,1	2,3	1,8	1,8	

En la tabla 45 se muestran los valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y el porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado mediante microdilución, en los 303 aislados clínicos de *S. agalactiae* del HSC.

**Tabla 45:** Valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> (en µg/ml) y porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado, en los 303 aislados clínicos de *S. agalactiae* del HSC

<b>Antibióticos</b>	<b>Rango</b>	<b>CMI<sub>50</sub></b>	<b>CMI<sub>90</sub></b>	<b>Aislados sensibles (%)</b>
<b>Ampicilina</b>	0,008 - 0,25	0,06	0,125	100
<b>Cefotaxima</b>	0,008 - 0,5	0,03	0,06	100
<b>Vancomicina</b>	0,5 - 1	0,5	1	100
<b>Teicoplanina</b>	≤ 0,004 - 0,5	≤ 0,004	0,125	ND
<b>Daptomicina</b>	0,004 - 1	0,125	0,5	100
<b>Gentamicina</b>	≤ 0,125 - > 256	4	8	ND
<b>Eritromicina</b>	≤ 0,03 - > 64	≤ 0,03	> 64	77,2
<b>Clindamicina</b>	≤ 0,03 - > 64	≤ 0,03	> 64	78,5
<b>Levofloxacino</b>	0,125 - 32	0,5	1	98
<b>Linezolid</b>	0,5 - 2	1	2	100

ND: El CLSI no define los puntos de corte para este antibiótico en esta especie

En las tablas 46 y 47 (y en sus anexos) aparece la distribución de aislados clínicos de esta especie que presentaron cada valor de CMI, en números absolutos y en porcentaje acumulado, respectivamente.

Tabla 46: Distribución, en números absolutos, de los 303 aislados clínicos de *S. agalactiae*, según cada valor de CMI (HSC)

	CMI (µg/ml)														
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008	≤ 0,004
Ampicilina									1	42	159	86	14	1	0
Cefotaxima								1	2	4	31	153	102	10	0
Vancomicina							150	153	0						
Teicoplanina								3	9	23	22	11	6	2	227
Daptomicina							20	19	58	92	58	14	15	16	11
Eritromicina	50	1	2	2	6	6	2	0	11	13	11	199			
Clindamicina	56	2	2	1	1	1	1	0	3	6	11	219			
Levofloxacino		1	0	1	4	9	43	169	73	3	0				
Linezolid						97	182	24	0						

Tabla 46: Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 256	128	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	≤ 0,125	
2	1	2	20	98	120	47	5	2	0	6	

Tabla 47: Distribución, en porcentajes acumulados, de los 303 aislados clínicos de *S. agalactiae*, según cada valor de CMI (HSC)

	CMI (µg/ml)														
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008	≤ 0,004
<b>Ampicilina</b>									100	99,7	85,8	33,3	5	0,3	0
<b>Cefotaxima</b>								100	99,7	99	97,7	87,5	37	3,3	0
<b>Vancomicina</b>							100	50,5	0						
<b>Teicoplanina</b>								100	99	96	88,4	81,2	77,6	75,6	74,9
<b>Eritromicina</b>	100	83,2	82,8	82,2	81,5	79,5	77,6	76,9	76,9	73,6	69,3	65,7			
<b>Daptomicina</b>							100	93,4	87,1	68	37,5	18,4	13,8	8,9	3,6
<b>Clindamicina</b>	100	81,2	80,5	79,9	79,5	79,2	78,9	78,5	78,5	77,9	78,9	72,3			
<b>Levofloxacino</b>		100	99,7	99,7	99,3	98	95	80,9	25,1	1	0				
<b>Linezolid</b>						100	68	7,9	0						

Tabla 47: Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 256	128	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	≤ 0,125	
100	99,3	99	98,3	91,7	59,4	19,8	4,3	2,6	2	2	

En la tabla 48 se muestran los valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> y el porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado mediante microdilución, en los 138 aislados clínicos de *S. agalactiae* del HV.

**Tabla 48:** Valores de rango, CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> (en µg/ml) y porcentaje de aislados sensibles, para cada antibiótico ensayado, en los 138 aislados clínicos de *S. agalactiae* del HV

<b>Antibióticos</b>	<b>Rango</b>	<b>CMI<sub>50</sub></b>	<b>CMI<sub>90</sub></b>	<b>Aislados sensibles (%)</b>
<b>Ampicilina</b>	0,008 - 0,125	0,03	0,06	100
<b>Cefotaxima</b>	0,008 - 0,125	0,03	0,03	100
<b>Vancomicina</b>	0,5 - 1	1	1	100
<b>Teicoplanina</b>	≤ 0,004 - 0,5	0,008	0,125	ND
<b>Daptomicina</b>	0,004 - 1	0,008	0,25	100
<b>Gentamicina</b>	≤ 0,125 - 16	4	8	ND
<b>Eritromicina</b>	≤ 0,03 - > 64	≤ 0,03	> 64	81,3
<b>Clindamicina</b>	≤ 0,03 - > 64	≤ 0,03	> 64	84
<b>Levofloxacino</b>	0,06 - 8	0,5	0,5	99,3
<b>Linezolid</b>	0,5 - 2	1	1	100

ND: El CLSI no define los puntos de corte para este antibiótico en esta especie

En las tablas 49 y 50 (y en sus anexos) aparece la distribución de aislados clínicos de esta especie que presentaron cada valor de CMI, en números absolutos y en porcentaje acumulado, respectivamente.

Tabla 49: Distribución, en números absolutos, de los 138 aislados clínicos de *S. agalactiae*, según cada valor de CMI (HV)

	CMI (µg/ml)														
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008	≤ 0,004
<b>Ampicilina</b>										10	59	57	9	3	0
<b>Cefotaxima</b>										4	7	87	36	4	0
<b>Vancomicina</b>							84	54	0						
<b>Teicoplanina</b>								1	11	15	11	13	11	11	65
<b>Daptomicina</b>							1	5	13	10	3	11	22	45	28
<b>Eritromicina</b>	21	0	0	0	2	3	0	0	11	5	6	90			
<b>Clindamicina</b>	22	0	0	0	0	0	0	0	5	10	4	97			
<b>Levofloxacino</b>				1	0	2	10	76	42	6	1	0			
<b>Linezolid</b>						7	110	21	0						

Tabla 49: Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina											
≥ 256	128	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	≤ 0,125	
0	0	0	4	60	53	16	3	0	0	2	

Tabla 50: Distribución, en porcentajes acumulados, de los 138 aislados clínicos de *S. agalactiae*, según cada valor de CMI (HV)

	CMI (µg/ml)														
	≥ 64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,008	≤ 0,004
<b>Ampicilina</b>										100	92,8	50	8,7	2,2	0
<b>Cefotaxima</b>										100	97,1	92	29	2,9	0
<b>Vancomicina</b>							100	39,1	0						
<b>Teicoplanina</b>								100	99,3	91,3	80,4	72,5	63	55,1	47,1
<b>Daptomicina</b>							100	99,3	95,7	86,3	79,1	76,9	68,9	53	20,3
<b>Eritromicina</b>	100	84,8	84,8	84,8	84,8	83,3	81,2	81,2	81,2	73,2	69,6	65,2			
<b>Clindamicina</b>	100	84,1	84,1	84,1	84,1	84,1	84,1	84,1	84,1	80,4	73,2	70,3			
<b>Levofloxacino</b>				100	99,3	99,3	97,8	90,6	35,5	5,1	0,7	0			
<b>Linezolid</b>						100	94,9	15,2	0						

Tabla 50: Anexo I

CMI (µg/ml) de gentamicina							
16	8	4	2	1	0,5	0,25	≤ 0,125
100	97,1	53,6	15,2	3,6	1,4	1,4	1,4



En la tabla 51 comparamos la actividad de los diferentes antibióticos ensayados frente a *S. agalactiae*. Para ello, se compara, entre ambos hospitales, el porcentaje de aislados sensibles y resistentes (valor estadístico *p* según la categoría clínica), y la distribución porcentual de aislados para cada valor de CMI (valor estadístico *p* según la CMI).

**Tabla 51:** Comparación, entre ambos hospitales, de la actividad de los diferentes antibióticos ensayados frente a los aislados clínicos de *S. agalactiae*

Antibióticos	HSC			HV			<i>p</i> (CC)	<i>p</i> (CMI)
	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Aislados sensibles (%)	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Aislados sensibles (%)		
<b>Ampicilina</b>	0,06	0,125	100	0,03	0,06	100	1,0000	<b>0,0003</b>
<b>Cefotaxima</b>	0,03	0,06	100	0,03	0,03	100	1,0000	0,7127
<b>Vancomicina</b>	0,5	1	100	1	1	100	1,0000	0,9407
<b>Teicoplanina</b>	≤ 0,004	0,125	ND	0,008	0,125	ND	ND	<b>0,0000</b>
<b>Daptomicina</b>	0,125	0,5	100	0,008	0,25	100	1,0000	<b>0,0000</b>
<b>Gentamicina</b>	4	8	ND	4	8	ND	ND	0,7967
<b>Eritromicina</b>	≤ 0,03	> 64	77,2	≤ 0,03	> 64	81,3	0,3837	0,8536
<b>Clindamicina</b>	≤ 0,03	> 64	78,5	≤ 0,03	> 64	84	0,2435	0,9946
<b>Levofloxacino</b>	0,5	1	98	0,5	0,5	99,3	0,4423	<b>0,0014</b>
<b>Linezolid</b>	1	2	100	1	1	100	1,0000	<b>0,0000</b>

ND: El CLSI no define los puntos de corte para este antibiótico en esta especie

Podemos observar que, para *S. agalactiae*, no hubo diferencias significativas en la sensibilidad de los aislados a cefotaxima, vancomicina, gentamicina, eritromicina y clindamicina, entre los dos hospitales.

Además, aunque no se encontraron diferencias significativas en cuanto a la actividad de ampicilina, teicoplanina, daptomicina, levofloxacino y linezolid,

analizados por categoría clínica, sí las hubo desde el punto de vista de la distribución de las CMI. Así, los aislados fueron más sensibles a teicoplanina en el HSC que en el HV, y al contrario, para los otros cuatro antibióticos.

#### *Resistencia a macrólidos en S. agalactiae*

En las tablas 52 y 53 se muestra la distribución de los aislados de *S. agalactiae*, en números absolutos y en porcentaje, respectivamente, según el fenotipo de resistencia a macrólidos y lincosamidas obtenido por el procedimiento de difusión con discos de eritromicina y clindamicina.

**Tabla 52:** Distribución de los aislados de *S. agalactiae*, en números absolutos, según el fenotipo de resistencia a macrólidos y lincosamidas

<b>Fenotipo</b>	<b>Total de los aislados</b>	<b>Aislados del HSC</b>	<b>Aislados del HV</b>
<b>S</b>	346	234	112
<b>cMLSB</b>	86	64	22
<b>iMLSB</b>	5	3	2
<b>M</b>	4	2	2

S: sensible a macrólidos y lincosamidas, cMLSB: constitutivo, iMLSB: inducible, M: resistente a macrólidos de 14 y 15 átomos

**Tabla 53:** Distribución de los aislados de *S. agalactiae*, en porcentaje, según el fenotipo de resistencia a macrólidos y lincosamidas

<b>Fenotipo</b>	<b>Total de los aislados</b>	<b>Aislados del HSC</b>	<b>Aislados del HV</b>
<b>S</b>	78,5	77,2	81,3
<b>cMLSB</b>	19,5	21,1	15,9
<b>iMLSB</b>	1,1	1	1,4
<b>M</b>	0,9	0,7	1,4

S: sensible a macrólidos y lincosamidas, cMLSB: constitutivo, iMLSB: inducible, M: resistente a macrólidos de 14 y 15 átomos

De nuevo, al igual que ocurría con *S. aureus*, cabe destacar el menor porcentaje de aislados con fenotipo inducible frente al constitutivo, en esta especie, en ambos hospitales.

### **ACTIVIDAD DE TIGECICLINA FRENTE A LOS AISLADOS DE *S. aureus* Y *S. agalactiae***

A partir del ensayo de microdilución se obtuvo que 218 de los 225 aislados de *S. aureus* (96,9%) identificados en el Hospital San Cecilio durante el año 2005, presentaron algún grado de resistencia (categoría clínica resistente o intermedio según el CLSI) a uno o más antibióticos. De éstos, 77 sólo fueron resistentes a penicilina. La actividad de tigeciclina se ensayó en los 141 aislados que fueron resistentes a, al menos un antibiótico, salvo penicilina.

En el caso de *S. agalactiae*, 63 de los 252 aislados de esta especie identificados en el mismo hospital durante el año 2005 presentaron algún grado de resistencia (categoría clínica resistente o intermedio según el CLSI) a uno o más antibióticos. En todos ellos se evaluó la actividad de tigeciclina.

En las tablas 54 y 55 se muestran las resistencias acumuladas a los diferentes antibióticos en estos 204 aislados.

Tras determinar el valor de CMI a tigeciclina mediante E-test en todos ellos, los valores fueron (en µg/ml): rango = 0.047-0.38, CMI<sub>50</sub> = 0.125, CMI<sub>90</sub> = 0.25 y 100% de aislados sensibles a tigeciclina para *S. aureus*; y rango = 0.032 - 0.25, CMI<sub>50</sub> = 0.125, CMI<sub>90</sub> = 0.25 y 100% de aislados sensibles a tigeciclina para *S. agalactiae*.

**Tabla 54:** Resistencias a distintos antibióticos en los 141 aislados clínicos de *S. aureus* en los que se evaluó la actividad de tigeciclina

Resistencias a diferentes antibióticos	Número de aislados	Total de aislados
L	2	2
P, O	1	24
P, G	1	
P, L	3	
P, E	14	
P, TS	2	
L, E	1	
E, C	1	
E, TS	1	
P, O, L	4	
P, L, E	1	
P, L, C	2	
P, T, E	2	
P, E, C	8	
K, To, E	1	
L, E, C	1	
P, O, L, E	3	20
P, O, E, TS	1	
P, G, K, To	2	
P, K, To, L	1	
P, K, To, TS	1	
P, L, T, C	1	
P, L, E, C	3	
P, T, E, C	8	
P, O, K, To, L	2	14
P, O, L, T, E	1	
P, O, L, E, C	5	
P, G, K, To, T	1	
P, K, To, T, E	1	
P, K, To, E, C	1	
P, K, To, E, TS	1	
P, L, T, E, C	1	
G, K, To, C, TS	1	
P, O, G, K, To, L	3	
P, O, K, To, L, E	10	
P, G, K, To, T, E	1	
P, L, T, E, C, TS	1	
K, To, L, T, E, C	1	

Tabla 54: Continuación

Resistencias a diferentes antibióticos	Número de aislados	Total de aislados
P, O, G, K, To, L, E	1	8
P, O, G, K, To, E, C	1	
P, O, K, To, L, T, E	1	
P, O, K, To, L, E, C	1	
P, G, K, To, L, E, C	2	
P, G, K, To, T, E, C	1	
P, G, K, To, E, C, TS	1	
P, O, G, K, To, L, E, C	5	10
P, O, K, To, L, T, E, C	5	
P, O, G, K, To, L, T, E, C	25	26
P, O, K, To, L, T, E, C, TS	1	
P, O, G, K, To, L, T, E, C, R	1	1
P, O, G, K, To, L, T, E, C, TS, R	1	1

P: Penicilina, O: Oxacilina, G: Gentamicina, K Kanamicina, To: Tobramicina, L: Levofloxacino, T: Telitromicina, E: Eritromicina, C: Clindamicina, TS: Trimetoprim-sulfametoxazol, R. Rifampicina

Tabla 55: Resistencias a distintos antibióticos en los 63 aislados clínicos de *S. agalactiae* en los que se evaluó la actividad de tigeciclina

Resistencias a diferentes antibióticos	Número de aislados	Total de aislados
L	3	9
E	4	
C	2	
E, C	53	53
L, E, C	1	1

L: Levofloxacino, E: Eritromicina, C: Clindamicina

## **RELACIÓN ENTRE DOSIS DIARIA DEFINIDA (DDD) Y SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA**

En la tabla 56 se muestra el consumo, en el Hospital San Cecilio, de distintos grupos de antibióticos (definidos por los principios activos más representativos) en los años 2004 y 2005 (en DDD/100 estancias hospitalarias) y el porcentaje de aislados sensibles a cada grupo antibiótico entre los 225 aislados de *S. aureus* identificados durante el año 2005 en el Servicio de Microbiología del mismo hospital.

Por su parte en la tabla 57 se muestra, de la misma forma, el consumo de antibióticos (en DDD/1000 habitantes) en el distrito sanitario dependiente del Hospital San Cecilio (consumo extrahospitalario) con el porcentaje de aislados sensibles a cada grupo de antibióticos entre los 225 aislados de *S. aureus* procedentes del mismo hospital, obtenidos durante el año 2005.

**Tabla 56:** Consumo de antibióticos en el HSC (en DDD/100 estancias) y porcentaje de aislados sensibles de *S. aureus*

Grupo	Antibiótico	DDD/100 estancias 2004	DDD/100 estancias 2005	Total DDD 2004+2005	Total DDD grupo	Porcentaje de sensibilidad
Betalactámicos	Penicilina	0,929	0,963	1,892	146,315	7,1
	Amoxicilina	3,385	2,632	6,017		
	Ampicilina	1,288	1,898	3,186		
	Amoxicilina-clavulánico	25,692	62,295	87,987		
	Cloxacilina	2,384	2,315	4,699		
	Cefazolina	19,46	23,666	43,126		
Macrólidos	Claritromicina	1,473	1,197	2,67	5,548	48,4
	Eritromicina	0,756	0,791	1,547		
	Azitromicina	0,483	0,803	1,286		
	Espiramicina	0,036	0,009	0,045		
Lincosamidas	Clindamicina	1,433	1,937	3,37	3,37	65,3
Aminoglucósidos	Tobramicina	1,614	1,063	2,677	8,645	78,7
	Gentamicina	2,752	2,312	5,064		
	Amikacina	0,519	0,385	0,904		
Fluorquinolonas	Ciprofloxacino	7,582	6,479	14,061	33,05	59,6
	Norfloxacino	1,087	0,925	2,012		
	Levofloxacino	6,508	8,455	14,963		
	Moxifloxacino	1,1	0,914	2,014		
Glucopéptidos	Vancomicina	0,861	1,466	2,327	6,913	100
	Teicoplanina	2,928	1,658	4,586		
Oxazolidinonas	Linezolid	3,606	1,18	4,786	4,786	100
Rifamicinas	Rifampicina	0,533	0,808	1,341	1,341	98,2
	Cotrimoxazol	0,877	2,09	2,967	2,967	94,7

**Tabla 57:** Consumo de antibióticos en el distrito sanitario dependiente del HSC (en DDD/1000 habitantes) y porcentaje de aislados sensibles de *S. aureus*

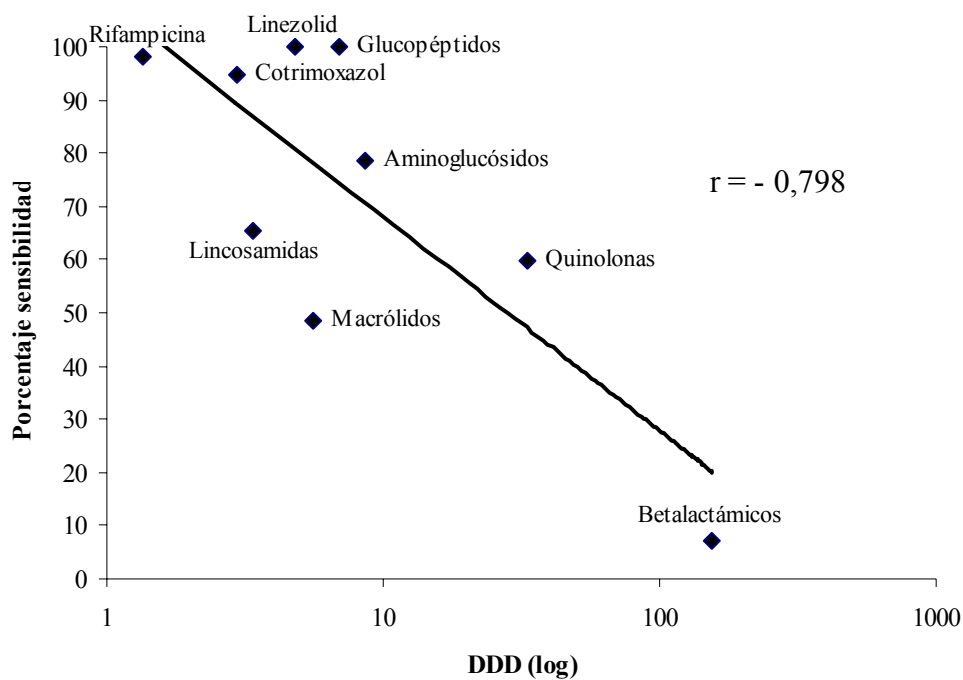
Grupo	Antibiótico	DDD/1000 habitantes 2004	DDD/1000 habitantes 2005	Total DDD 2004+2005	Total DDD grupo	Porcentaje de sensibilidad
Betalactámicos	Penicilina	24598	20935	45533	4551187	7,1
	Amoxicilina	681478	614712	1296190		
	Ampicilina	2351	1224	3575		
	Amoxicilina-clavulánico	1310547	1479446	2789993		
	Cloxacilina	32376	32384	64760		
	Cefuroxima	187786	163350	351136		
Macrólidos	Claritromicina	161060	129137	290197	694580	48,4
	Roxitromicina	7924	5300	13224		
	Eritromicina	43631	39438	83069		
	Azitromicina	134960	128213	263173		
	Acetilespiramicina	6788	5600	12388		
	Espiramicina	1890	1882	3772		
	Josamicina	12215	7864	20079		
	Midecamicina	5141	3537	8678		
Ketólidos	Telitromicina	18575	16500	35075	35075	72,4
Lincosamidas	Clindamicina	14949	16144	31093	31093	65,3
Aminoglucósidos	Amikacina	107	1	108	13176	78,7
	Tobramicina	1115	607	1722		
	Gentamicina	6172	5174	11346		
Fluorquinolonas	Ciprofloxacino	152770	160828	313598	713735	59,6
	Norfloxacino	61676	50854	112530		
	Ofloxacino	23305	19995	43300		
	Levofloxacino	57040	75330	132370		
	Moxifloxacino	56828	55109	111937		
Glucopéptidos	Vancomicina	55	25	80	80	100
Rifamicinas	Rifampicina	2746	3728	6474	6474	98,2
	Cotrimoxazol	37479	41910	79389	79389	94,7



En la figura 8 se muestra la relación entre el consumo hospitalario de los diversos grupos antibióticos (expresado en  $\log_{10}$  de la DDD) y el porcentaje de sensibilidad de los 225 aislados de *S. aureus*.

El valor del coeficiente de correlación fue  $r = -0,798$  ( $p=0,01$ ).

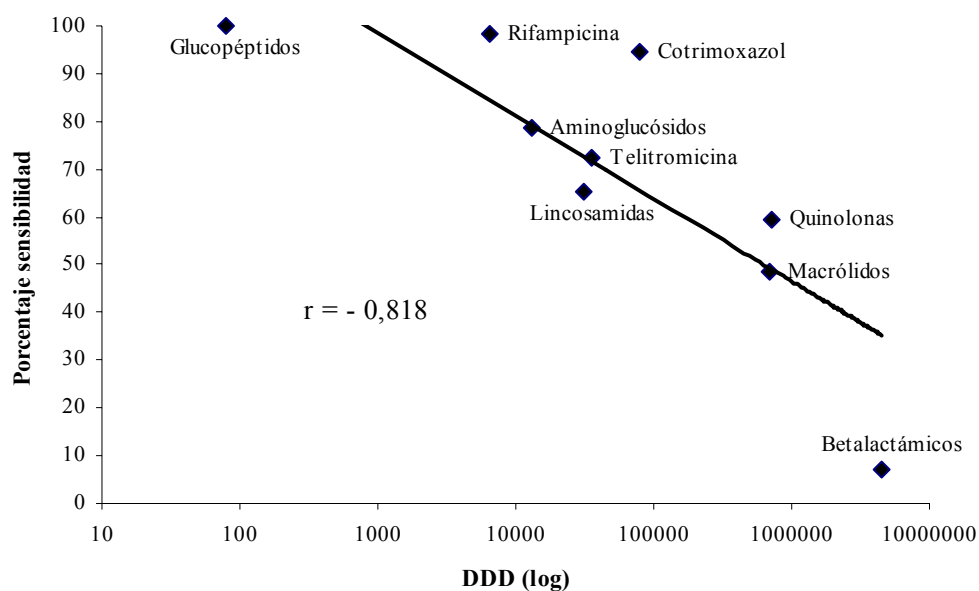
**Figura 8:** Relación entre el consumo hospitalario de antibióticos y la sensibilidad de los aislados de *S. aureus*



De igual modo, en la figura 9 se muestra la relación entre el consumo extrahospitalario de los diversos grupos antibióticos (expresado en  $\log_{10}$  de la DDD) y el porcentaje de sensibilidad de los 225 aislados de *S. aureus*.

En este caso, el valor del coeficiente de correlación fue  $r = -0,818$  ( $p=0,007$ ).

**Figura 9:** Relación entre el consumo extrahospitalario de antibióticos y la sensibilidad de los aislados de *S. aureus*



En ambos casos, tanto analizando el consumo hospitalario como extrahospitalario de antibióticos, podemos comprobar que existe, de forma estadísticamente significativa, una relación inversa entre consumo y sensibilidad: A mayor consumo de antibióticos, menor porcentaje de aislados sensibles a los mismos (es decir, mayor porcentaje de aislados resistentes).

# **DISCUSIÓN**

Los hospitales San Cecilio de Granada y Nuestra Señora de Valme de Sevilla son dos hospitales generales de especialidades, comparables en su labor asistencial, número de camas y población a la que atienden, y ambos, además, situados en la Comunidad Autónoma de Andalucía. Por ello, se puede suponer que los datos de sensibilidad obtenidos en los microorganismos identificados en ambos hospitales deben ser también similares, y las diferencias microbiológicas, si existen, no se deberían a la naturaleza de su actividad asistencial. Por esta razón, se decidió realizar un estudio comparativo de la actividad de diversos antibióticos sobre un número significativo de aislados clínicos de cocos grampositivos, microorganismos, especialmente *S. aureus*, con importantes tasas de multiresistencia. Los problemas derivados de esta resistencia influyen en el alcance del objetivo terapéutico, que no es otro que el de eliminar la infección, disminuyendo la morbilidad, la mortalidad y el coste de los tratamientos antibióticos, así como el aumento de la calidad de vida de nuestros pacientes.

## **SENSIBILIDAD DE LOS AISLADOS**

### ***Staphylococcus aureus***

La resistencia a penicilina es el tipo de resistencia más común a los antibióticos betalactámicos en bacterias grampositivas, y está mediada por penicilinasas. Marín y Gudiol (2003) situaron la tasa de prevalencia de *S. aureus* resistente a penicilina en España en cifras en torno al 95%. Como podemos comprobar, la resistencia a penicilina entre nuestros aislados clínicos de *S. aureus* fue similar a las tasas nacionales, y sin diferencias significativas entre ambos

hospitales (92,5% en HSC vs. 95,4% en HV). Penicilina fue, por tanto, el antibiótico menos activo frente a *S. aureus*, como cabía esperar.

Este elevado porcentaje de resistencia a penicilina a nivel nacional se ha relacionado con el elevado consumo de antibióticos betalactámicos, tanto en la comunidad como a nivel hospitalario, ya que el volumen de consumo de éstos se estima en torno al 50% frente al total de antibióticos consumidos en toda España (Solé-López y cols., 2004; Cars y cols., 2001). De la misma forma, en nuestro estudio, también se observaron unas cifras de consumo de betalactámicos muy elevadas en el Hospital San Cecilio, en comparación con el resto de antibióticos, y, como se aprecia en las figuras 8 y 9, este consumo se relacionó, estrechamente, con unas tasas muy elevadas de resistencia a estos antibióticos.

Sin embargo, a nivel clínico, la resistencia más importante en *S. aureus* es la resistencia a meticilina. Estudios previos, realizados en España, han documentado un incremento considerable de la detección de aislados SARM en los últimos años. Así, en los estudios españoles de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos (VIRA) se observó un incremento de la detección de este tipo de aislados, desde unas tasas de 1,5% en 1986 a valores de 31,2% en 2002 (tabla 58), si bien, posteriormente, la resistencia a meticilina en esta bacteria se ha estabilizado, ya que desde el año 2002 se ha mantenido en torno al 30% (Cuevas y cols., 2008).

Los resultados obtenidos en el presente estudio fueron cercanos a estos valores actuales (tasa conjunta entre ambos hospitales igual al 30,8%). Sin embargo, las tasas obtenidas en el Hospital San Cecilio son significativamente superiores, y más cercanas a la realidad española (34,3%), que las encontradas en el Hospital Nuestra Señora de Valme (19,5%). Esta diferencia entre ambos hospitales nos hace

pensar que, en el hospital sevillano podría existir una política antibiótica que ha contenido la evolución ascendente de dichas resistencias.

**Tabla 58:** Evolución de la resistencia de *Staphylococcus aureus* en España (Cuevas y cols., 2008)

Antibiótico	Porcentaje de resistencia por año					
	1986	1991	1994	1996	2002	2006
<b>Penicilina</b>	94,9	97,1	92,3	92,1	89,3	89,0
<b>Oxacilina</b>	1,5	11,2	16,6	17,9	31,2	29,2
<b>Eritromicina</b>	7,0	24,5	33,9	24,2	31,7	31,7
<b>Clindamicina</b>	0	6,4	20,6	18,7	20,1	19,9
<b>Gentamicina</b>	5,2	14,1	19,3	16,4	16,9	8,6
<b>Tobramicina</b>	ND	ND	ND	ND	ND	27,0
<b>Rifampicina</b>	1,1	4,9	8,7	7,0	1,8	0,6
<b>Cotrimoxazol</b>	ND	ND	0,5	1,1	2,1	0,9
<b>Ciprofloxacino</b>	0,6	16,6	20,6	19,9	33,9	37,4
<b>Vancomicina</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Teicoplanina</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Linezolid</b>	ND	ND	ND	ND	0	0,2

ND: No determinado

Por otro lado, hay que destacar, que en el último estudio VIRA (Cuevas y cols., 2008), los investigadores obtuvieron una tasa media de SARM del 26,8% en la región de Andalucía, lo cual nos permite determinar que uno de nuestros hospitales objeto de estudio (HSC) se sitúa por encima, mientras que el otro (HV) está por debajo de las tasas de prevalencia en nuestra comunidad autónoma.

Estos datos de prevalencia de aislados SARM no son muy distintos a los obtenidos en otros países. En concreto, según el Programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY (Moet y cols., 2007), el porcentaje de aislados de *S. aureus* resistentes a meticilina en Norteamérica es del 35,9%, mientras que, en

Europa, es del 22,8% (tabla 59). Dentro de la propia Unión Europea existen países con mayores tasas de resistencias, como España o Francia, mientras que otros países, como los Países Bajos o los países escandinavos, poseen tasas de resistencia inferiores al 5% (Rodríguez-Baño y cols., 2008). Estos mismos resultados también se ven reflejados en otros estudios internacionales, en los que se sigue destacando la gran diferencia en cuanto a prevalencia de SARM entre los países nórdicos y los países mediterráneos, y donde España continúa encontrándose entre los 10 países con mayor tasa de SARM dentro de la Unión Europea (Zinn y cols., 2004).

**Tabla 59:** Resultados del Programa de Vigilancia Antimicrobiana SENTRY en el periodo 1998-2004, referidos a *Staphylococcus aureus* (Moet y cols., 2007)

Antibiótico	Porcentaje de sensibilidad por área geográfica		
	Norteamérica	Latinoamérica	Europa
<b>Oxacilina</b>	64,1	70,6	77,2
<b>Eritromicina</b>	50,5	61,2	71,1
<b>Clindamicina</b>	76,7	72,6	86,0
<b>Ciprofloxacino</b>	68,1	70,8	76,1
<b>Gentamicina</b>	93,1	74,5	86,9
<b>Linezolid</b>	100	100	100
<b>Cotrimoxazol</b>	98,6	90,4	98,2
<b>Vancomicina</b>	100	100	100

Comparando nuestros resultados de sensibilidad para otros antibióticos, con los del estudio VIRA publicado en 2008 (Cuevas y cols., 2008) (tabla 58), observamos que, en líneas generales, al igual que en este estudio, se mantiene una elevada sensibilidad de *S. aureus* frente a glucopéptidos y linezolid, fundamentalmente, pero también frente a rifampicina y cotrimoxazol. Por otra parte,

en nuestro trabajo, no se ha detectado ningún aislado resistente a vancomicina, teicoplanina o linezolid, como sí ocurrió en el estudio de Cuevas y cols. (2008), en el que se describió un aislado de *S. aureus* resistente a linezolid (tabla 58). Por eso, aunque por ahora no se haya detectado resistencia ni a glucopéptidos ni a oxazolidinonas en ninguno de los hospitales de nuestro estudio, sí que es necesario realizar una estrecha vigilancia, e implementar medidas restrictivas en cuanto al uso de estos antibióticos a nivel hospitalario, para evitar que, en un futuro no muy lejano, se desarrollen; más aún, cuando, en el presente estudio, se han detectado, en el Hospital San Cecilio, 13 aislados de *S. aureus* con un valor de CMI igual a 2 µg/ml, por tanto, en el punto de corte para definir sensibilidad.

En el caso de daptomicina, puesto que es un antibiótico de reciente incorporación al arsenal terapéutico, y que ha sido desarrollado frente a microorganismos multirresistentes y/o a aquellos resistentes a los antibióticos habituales, no se ha detectado ningún aislado de *S. aureus* resistente al mismo en ninguno de los hospitales de nuestro estudio. Estos resultados no pueden ser comparados con los estudios de vigilancia epidemiológica españoles puesto que, en éstos, este antibiótico no pudo ser considerado.

En EEUU, sin embargo, sí se han detectado aislados de *S. aureus* que presentan sensibilidad disminuida a daptomicina, representando, actualmente, tan solo un 0,04% (Almirante, 2008). También en un estudio europeo multicéntrico sólo se encontraron 2 aislados con sensibilidad disminuida a daptomicina (CMI = 2 µg/ml) de entre 4842 aislados de *S. aureus* (Sader y cols., 2006).



España es, clásicamente, uno de los países europeos con mayor prevalencia de resistencia a aminoglucósidos, especialmente a gentamicina. En el último estudio VIRA (Cuevas y cols., 2008), sin embargo, se puso de manifiesto que tras una tendencia ascendente durante la década de los 90, alcanzándose tasas cercanas al 20%, la prevalencia de resistencia a este antibiótico disminuyó hasta situarse en un 8,6% en el año 2006 (tabla 58). En este sentido, el Hospital Nuestra Señora de Valme presentó unas tasas de resistencia más cercanas a las tasas nacionales (6,9%), que el Hospital San Cecilio (22,1%). En este último la resistencia a gentamicina se aproxima más a los valores españoles de hace una década.

En diversos estudios (Dancer y cols., 2006; Gould, 1999) se considera que las diferencias de sensibilidad para los aminoglucósidos que puedan aparecer entre diferentes hospitales son debidas a una diferente política antibiótica en cada centro y, por tanto, probablemente estaría relacionado con el hecho de que el consumo de aminoglucósidos ejercería una presión selectiva frente a la aparición de resistencias, especialmente frente al antibiótico más usado en este grupo, gentamicina. De hecho, ya en los años 70, algunos autores pretendían limitar las indicaciones terapéuticas de los aminoglucósidos y reservarlos para determinadas infecciones, ya que se veía que existía una estrecha relación entre el consumo previo de estos antibióticos y la aparición de resistencias (Bint y cols., 1977).

Aún así, gentamicina fue el aminoglucósido más activo, de los tres ensayados, frente a los aislados de *S. aureus*. Las tasas de resistencia obtenidas en ambos hospitales, de forma conjunta, para los otros dos aminoglucósidos, tobramicina y kanamicina, son superiores a las obtenidas para gentamicina, como también ocurrió en el estudio VIRA (Cuevas y cols., 2008).

En el caso de macrólidos y lincosamidas encontramos diferencias significativas en la sensibilidad de los aislados entre ambos hospitales, de manera que la sensibilidad de los aislados a eritromicina y clindamicina en el Hospital Nuestra Señora de Valme es mayor, y más aproximada a las cifras expuestas por estudios europeos como el de Moet y cols. (2007), mientras que las cifras obtenidas en el Hospital San Cecilio se acercan más a las tasas alcanzadas en estudios españoles como el de Cuevas y cols. (2008).

Hay que destacar el mayor porcentaje de aislados con fenotipo  $MLS_B$  constitutivo frente a inducible, al igual que se ha constatado en otros estudios (Delialioglu y cols., 2005). Sin embargo, los datos de nuestro estudio difieren con el estudio español de Merino-Díaz y cols. (2007), en el que el fenotipo de resistencia predominante fue el inducible, y con un estudio inglés (Hamilton-Miller y Shah, 2000) en el que el fenotipo predominante fue el  $MS_B$ , caracterizado por la resistencia mediada por bombas de eflujo, en lugar de por modificación de la diana de acción.

En cuanto a telitromicina, otros trabajos han encontrado un porcentaje similar de actividad al obtenido en el Hospital San Cecilio, significativamente inferior al obtenido en el Hospital Nuestra Señora de Valme (Cantón y cols., 2002). En realidad, podemos decir que este cetólido, aunque se ha diseñado con menor capacidad de seleccionar resistencias, no podría ser considerado como una alternativa en caso de estafilococos con fenotipo constitutivo  $MLS_B$ , que son los aislados mayoritarios en nuestro caso, debido a la falta de eficacia frente a ellos.

Las fluorquinolonas constituyen una de las alternativas terapéuticas a los antibióticos betalactámicos más empleadas frente a los aislados SARM. Sin embargo, también la resistencia a estos antibióticos es cada vez más elevada debido, fundamentalmente, a su elevado consumo (Sobrino y cols., 2008) y la facilidad que presentan las bacterias para seleccionar mutaciones, tanto en *parC* como en *gyrA*, fundamentalmente (Fournier y Hooper, 1998).

En nuestro estudio, las cifras de resistencia a levofloxacino en el Hospital San Cecilio (46,1%) son significativamente superiores a las detectadas en el Hospital Nuestra Señora de Valme (29,9%), y también más elevadas que las que se publicaron en el estudio VIRA de 2008 (37,4% de aislados de *S. aureus* resistentes a ciprofloxacino en el año 2006) (Cuevas y cols., 2008) (tabla 58). En cuanto a datos referidos a estudios internacionales (Moet y cols., 2007), la prevalencia de resistencia se sitúa, normalmente, por debajo del 30%, lo que significa que, en nuestro medio, las tasas son considerablemente mayores. Cabe destacar el menor porcentaje en Norteamérica (21,9%) frente a la mayor tasa que se presenta en Latinoamérica (29,2%), siendo Europa la que se coloca en una posición intermedia (tabla 59).

#### *Staphylococcus aureus con resistencia a meticilina*

Los aislados SARM se han caracterizado, históricamente, por asociar resistencia a otros grupos antibióticos, a excepción, generalmente, de oxazolidinonas y glucopéptidos, como queda reflejado en los estudios VIRA realizados en nuestro país (tabla 60), y en los que aún no estaban comercializadas nuevas moléculas como daptomicina o tigeciclina.

**Tabla 60:** Resultados de los estudios VIRA en aislados SARM (Picazo y cols., 2002; Picazo y cols., 2004; Picazo y cols., 2006)

Antibiótico	Porcentaje de aislados sensibles por periodo de estudio		
	Octubre 2001	Febrero 2004	Febrero 2006
<b>Ciprofloxacino</b>	2,4	3,8	3,4
<b>Gentamicina</b>	65,6	66,8	80,5
<b>Eritromicina</b>	18,0	13,5	24,2
<b>Clindamicina</b>	38,4	48,1	66,1
<b>Rifampicina</b>	95,6	98,3	61,7
<b>Cotrimoxazol</b>	95,6	92,0	92,0
<b>Vancomicina</b>	100	100	99,7
<b>Teicoplanina</b>	100	100	100
<b>Linezolid</b>	100	100	99,7

Como se puede apreciar, entre los aislados SARM, la mayor tasa de resistencia se da entre fluorquinolonas y macrólidos, en menor medida para aminoglucósidos y lincosamidas, y por último han conservado una buena actividad rifampicina y cotrimoxazol. Sólo recientemente han comenzado a aparecer los primeros aislados con sensibilidad reducida a glucopéptidos y linezolid (Picazo y cols., 2006).

En nuestro estudio todos los aislados SARM fueron sensibles a glucopéptidos y a linezolid, también fueron predominantemente sensibles a rifampicina y cotrimoxazol, y, además obtuvimos tasas de resistencia cercanas al 50% para quinolonas y aminoglucósidos. Por el contrario, la resistencia de SARM a eritromicina en nuestro estudio sigue siendo elevada, situándose en torno al 80%.

Diversos autores coinciden en considerar que, en los últimos años, se ha producido una disminución de las tasas de multiresistencia en aislados SARM (Sopena y cols., 2002). En este sentido, Domínguez-Luzón y Pujol-Rojo (2002)

determinaron posibles propuestas para justificar esta disminución de las tasas de co-resistencia:

- Cambios en la utilización de los antibióticos o políticas de uso racional de los antibióticos.
- Mayor capacidad adaptativa de las cepas SARM, sensibles a un mayor número de antibióticos.
- Evolución genética “vertical”, por la cual las cepas más sensibles procederían de las cepas multiresistentes hospitalarias mediante múltiples procesos de recombinación de distinta naturaleza.
- Transferencia genética “horizontal” y recombinación, consecuencia de transferencias del gen *mecA* a organismos más sensibles.

### ***Enterococcus spp.***

En un reciente estudio multicéntrico realizado sobre aislados de *E. faecalis* y *E. faecium* obtenidos en 41 hospitales españoles (Oteo y cols., 2007) se obtuvieron unas tasas de resistencia (*E. faecalis* - *E. faecium*) a ampicilina, vancomicina y linezolid de: 1,3% - 65,1%; 0,4% - 3,9%; 0,7% - 0%, respectivamente, destacando, en el mismo, el importante incremento de la resistencia a ampicilina en *E. faecium*, que, en nuestro caso, y teniendo en cuenta el escaso número de aislados de esta especie, no encontramos, como tampoco hemos hallado, en ninguna de las dos especies y en ninguno de los dos hospitales, resistencias a vancomicina, daptomicina o linezolid.

Esta ausencia de resistencia a glucopéptidos coincide con los resultados de un estudio europeo del año 2001, en el que no se detectaron cepas resistentes a estos

antibióticos entre *E. faecalis*; sin embargo, en ese mismo estudio, sí se detectó una tasa de resistencia a ampicilina inferior al 1% (Hanberger y cols., 2001). El problema de los enterococos resistentes a vancomicina se produce principalmente en las unidades de cuidados intensivos, fundamentalmente en Norteamérica, donde las tasas de prevalencia de esta resistencia se acercan al 13% (Hanberger y cols., 2001).

Para levofloxacino las cifras de resistencia en el Hospital San Cecilio son similares a las detectadas en otros estudios españoles, y significativamente superiores a las obtenidas en el Hospital Nuestra Señora de Valme (Loza y cols., 2003).

En el presente estudio, puesto que el CLSI no define los puntos de corte para establecer las categorías clínicas de los enterococos frente a aminoglucósidos, debido a la resistencia natural que presentan, no se ha podido determinar el porcentaje de aislados sensibles a gentamicina. Sin embargo, los aminoglucósidos siguen jugando un papel importante en el tratamiento de infecciones causadas por enterococos, ya que se utilizan habitualmente en combinación con otros antibióticos que permiten su entrada en la célula bacteriana, obteniéndose un efecto sinérgico.

### ***Streptococcus agalactiae***

Esta bacteria sigue siendo sensible a ampicilina y, en general, a los antibióticos betalactámicos, sin que hasta el momento se haya documentado ningún aislado resistente. Como podemos observar en nuestro estudio, y en otros (González y cols., 2004), *S. agalactiae* mantiene una buena sensibilidad también a fluorquinolonas, glucopéptidos, daptomicina y linezolid.

Por el contrario, la resistencia a macrólidos y lincosamidas se ha ido incrementando, con cifras actuales de resistencia alrededor del 15% en España

(Betriú y cols., 2000; González y cols., 2004) y, en nuestro estudio, un poco más altas (alrededor del 20%), siendo especialmente característica la mayor presencia de cepas con fenotipo MLS<sub>B</sub> constitutivo frente al inducible, al igual que ocurría con *S. aureus*, y como también ha sido descrito por otros autores, incluso en otros hospitales andaluces (Merino-Díaz y cols., 2007).

Al igual que ha ocurrido con macrólidos y lincosamidas, actualmente, la resistencia a fluorquinolonas está empezando a aumentar. Los primeros aislados de *S. agalactiae* resistentes a levofloxacin en España se describieron en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona) entre los años 2003 y 2004 (Miró y cols., 2006). En este contexto, sin embargo, hay que destacar que las tasas de resistencia de este microorganismo a fluorquinolonas en EEUU alcanzan ya cifras del 4,4% (Wehbeh y cols., 2005).

Por otro lado, la administración endovenosa de antibióticos intraparto a las gestantes portadoras de *S. agalactiae* es la única medida eficaz, actualmente aceptada, para interrumpir la transmisión vertical de este microorganismo. Como profilaxis de la infección neonatal por esta bacteria, se recomienda la administración intraparto de penicilina G o ampicilina en todas las mujeres identificadas como portadoras vaginales o rectales de *S. agalactiae* durante la gestación (The Spanish Society of Obstetrics and Gynecology y cols., 2003). En nuestro estudio, en el que el 96% de las muestras de *S. agalactiae* procedieron de estudios de colonización vagino-rectal en embarazadas, ampicilina conservó una excelente actividad frente a este microorganismo.

Sin embargo, hay que considerar alternativas terapéuticas en pacientes alérgicos a betalactámicos. En estos casos está indicado el uso de eritromicina o

clindamicina (The Spanish Society of Obstetrics and Gynecology y cols., 2003). Ahora bien, cada día son menos las opciones terapéuticas en pacientes alérgicos a los betalactámicos, ya que las tasas actuales de resistencia a eritromicina en *S. agalactiae* en España son relativamente elevadas (Betriú y cols., 2003). Por tanto, si descartamos, por su alta tasa de resistencias, a los macrólidos y las lincosamidas; a las fluorquinolonas, que están restringidas en embarazadas; y a vancomicina, actualmente cuestionada por su complejidad en la administración y su toxicidad; podría ser útil el uso de linezolid, daptomicina o tigeciclina.

#### **ACTIVIDAD DE TIGECICLINA**

En este trabajo se evaluó la actividad de tigeciclina en los 141 aislados clínicos de *S. aureus* y 63 de *S. agalactiae* obtenidos en el Hospital San Cecilio y resistentes a otros antibióticos de uso habitual frente a ambas especies bacterianas. Tigeciclina mostró una excelente actividad frente a ambos microorganismos, independientemente de la resistencia de éstos a otros grupos antibióticos como betalactámicos, aminoglucósidos, fluorquinolonas, macrólidos o lincosamidas.

Además, junto con glucopéptidos, daptomicina y linezolid, ha mantenido su actividad sobre el 100% de los aislados de *S. aureus*; siendo tigeciclina la que presentó los valores más bajos de CMI<sub>50</sub> y CMI<sub>90</sub>.

En el caso de *S. agalactiae*, junto con tigeciclina, glucopéptidos, daptomicina y linezolid, también los antibióticos betalactámicos fueron activos frente al 100% de los aislados, presentando, estos últimos, una actividad *in vitro* ligeramente superior a los demás. Abundando en esta idea, en un estudio previo de nuestro grupo (Sorlózano y cols., 2006) se observó que la actividad de tigeciclina no presentaba



diferencias significativas frente aislados de *S. aureus* meticilin-sensibles o meticilin-resistentes.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo son similares a los publicados por otros autores que han evaluado la actividad de tigeciclina frente a variedad de bacterias grampositivas multirresistentes de diferentes zonas geográficas. Frente a *S. aureus*, por ejemplo, los valores de CMI<sub>50</sub> y CMI<sub>90</sub> han oscilado en diferentes estudios entre 0,12 y 0,25 µg/ml, mientras que para *S. agalactiae* han oscilado entre 0,06 y 0,25 µg/ml, respectivamente (Betriú y cols., 2006; Fritsche y cols., 2005; Gales y Jones, 2000; Hoban y cols., 2005; Milatovic y cols., 2003; Sader y cols., 2005).

En definitiva, los resultados de este estudio sugieren que tigeciclina podría ser una buena alternativa en el tratamiento de las infecciones causadas por *S. aureus* y *S. agalactiae* resistentes a otros antibióticos, debido a su excelente actividad. Dada la importancia de estos microorganismos en las infecciones nosocomiales, y las indicaciones iniciales para el uso de tigeciclina, los resultados presentados demuestran que tigeciclina posee una excelente actividad frente a estos patógenos.

## **RELACIÓN ENTRE CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS Y SENSIBILIDAD DE LOS AISLADOS**

Diversos estudios demuestran que España es uno de los países europeos con más prescripciones de antibióticos y mayores tasas de resistencia, especialmente entre patógenos comunitarios (Palop y cols., 2002; Goossens y cols., 2005).

En nuestro caso, el consumo de los antibióticos representativos de cada grupo en el Hospital San Cecilio (tablas 56 y 57) es comparable al especificado por otros

trabajos (Abasolo-Osinaga y cols., 2005). También en éstos, el grupo más dispensado fueron los betalactámicos, fundamentalmente las penicilinas asociadas a un inhibidor de betalactamasas y, entre éstas, principalmente, la combinación amoxicilina-ácido clavulánico. Dicha combinación que representa, aproximadamente, el 50% del consumo de penicilinas, tanto en España, como en otros países, como especifica el estudio europeo ESAC (European Surveillance of Antimicrobial Consumption) (Ferech y cols., 2006).

Sólo en el caso de los países nórdicos y en el estudio español de Solé-López y cols. (2004), el consumo de amoxicilina fue superior al de amoxicilina-clavulánico, lo que puede ser considerado un factor positivo a la hora de evitar la presión selectiva sobre los microorganismos. A los betalactámicos, le siguen, de lejos, los macrólidos y las fluorquinolonas.

Estos datos también son comparables al estudio realizado por Abasolo-Osinaga y cols. (2005), donde el consumo de betalactámicos, macrólidos y fluorquinolonas representaba el 80%, mientras que en nuestro caso llegó a valores superiores al 95% del consumo antibiótico total.

También a nivel europeo (Cars y cols., 2001) se ha puesto de manifiesto este patrón de consumo de antibióticos, tanto para España, como para el resto de países incluidos en el estudio: el 65% de los antibióticos dispensados pertenecían al grupo de los betalactámicos, seguidos por macrólidos-lincosamidas (18%) y quinolonas (7,6%).

En nuestro caso, y también en el estudio francés de Muller y cols. (2003), sin embargo, el consumo de fluorquinolonas superó al de macrólidos, lo cual podría estar contribuyendo a la aparición de resistencias, ya que diferentes estudios han

demostrado la alta capacidad de selección de mutantes resistentes, principalmente en el caso de fluorquinolonas y de cefalosporinas (Borner y cols., 1986; Muller y cols., 2003; Thomas y cols., 1998; Westh y cols., 2004). Incluso, algunos autores, llegan a la conclusión de que el volumen de consumo de fluorquinolonas, y en concreto de levofloxacino, podría ser el mayor factor predictivo de resistencia de *S. aureus* a meticilina en el ámbito hospitalario y este hecho podría también ser trasladado a la comunidad (McDougall y cols., 2005).

Por otro lado, la resistencia a macrólidos podría relacionarse con el elevado consumo de este grupo de antibióticos en el ambiente extrahospitalario, ya que el consumo dentro del hospital es prácticamente irrelevante, en comparación con otros, mientras que, a nivel comunitario se ha favorecido la extensión de su uso gracias a su fácil posología. Esta preocupación por el elevado consumo comunitario de macrólidos es compartida por otros investigadores (Solé-López y cols., 2004). De hecho, proponen como parámetros de buena práctica en terapéutica antimicrobiana y, por tanto, un objetivo a cumplir en cuanto a consumo, que exista un mayor uso de amoxicilina sobre amoxicilina-clavulánico, cefuroxima entre las cefalosporinas orales, claritromicina entre los macrólidos y fluorquinolonas de primera y segunda generación sobre el resto de quinolonas.

Si nos centramos en los estudios que han intentado relacionar el consumo de antibióticos con la resistencia bacteriana, en el estudio de Westh y cols. (2004) se intentó relacionar dicho consumo de antibióticos, en hospitales de diferentes países del mundo, y las tasas de resistencia a meticilina de *S. aureus*. En el mismo, encontraron una correlación positiva entre ambos factores: el consumo de las combinaciones de betalactámicos más inhibidores de betalactamasas, cefalosporinas,

quinolonas y glucopéptidos (a excepción de vancomicina cuando se usa en erradicación de SARM), crean una presión selectiva que proporciona ventajas a la aparición de cepas SARM.

Además, según estos mismos autores, el consumo de antibióticos no es el único hecho que condiciona la aparición y/o diseminación de las resistencias, sino que proponen la existencia de otros factores implicados, que explicarían casos en los que el nivel de resistencias es elevado, pero donde no hay un excesivo consumo de antibióticos, como es el caso de los hospitales de Malasia. Uno de esos factores propuestos es la existencia de varias camas en la misma habitación del hospital, o bien, la transmisión bacteriana debida al personal sanitario como se ha visto en otros estudios; en definitiva, procesos de diseminación clonal de los mecanismos de resistencia (Lipsitch y cols., 2000).

Es sabido que la mayoría de los antibióticos se prescriben en atención primaria, siendo su manejo diferente del que ocurre a nivel hospitalario, que constituye tan solo el 5-10% del total (Vander Stichele y cols., 2006). La prescripción irracional, la dispensación inapropiada, el consumo incorrecto, la ausencia de comisiones asesoras a nivel extrahospitalario, etc., son algunos de los problemas que facilitan la aparición de resistencias (Pastor-Sánchez, 2006).

Podemos decir que, como en los hospitales, el control del uso de antibióticos está más restringido, en el ámbito extrahospitalario la correlación entre consumo y resistencia será mayor, como demuestra nuestro estudio. Además, éste es un punto a tener en cuenta, ya que existe un modelo matemático propuesto por Lipsitch y cols. (2000) que demuestra que si queremos implantar medidas correctoras del uso de antibióticos y que éstas influyan positivamente en las resistencias bacterianas, en el

caso hospitalario, obtendremos resultados en semanas o meses, mientras que en la comunidad serán necesarios periodos más largos para obtener esos mismos resultados.

Por tanto, y para finalizar, hemos obtenido una relación directa entre consumo y resistencias antibióticas, demostrando que, las mayores tasas de resistencia aparecen frente a aquellos antibióticos más consumidos. Además, según los patrones de resistencia obtenidos y los estudios empleados en este trabajo, podríamos decir que es importante no generalizar en cuanto a la prevalencia de las resistencias bacterianas, es decir, son necesarios estudios periódicos y locales de la resistencia, puesto que los datos obtenidos, tanto a nivel nacional, como a niveles locales, muestran tasas de resistencia dispares (Solé-López y cols., 2004). Además, es necesario conocer profundamente el consumo de antibióticos para poder implementar estrategias que permitan obtener políticas antibióticas óptimas, que reduzcan el nivel de resistencias y, por tanto, que optimicen los resultados terapéuticos (Cars y cols., 2001). De la misma forma, serían necesarias más campañas sanitarias promovidas por las autoridades con el fin de concienciar a la población del riesgo que supone el consumir antibióticos de manera inadecuada, bien por automedicación o falta de cumplimiento del tratamiento antibiótico completo, o bien, instigando al médico para que le prescriba antibióticos cuando en realidad no tienen indicación de uso.

Entre las limitaciones de nuestro estudio se encuentra el no haber podido tener en cuenta las recetas a cargo de las entidades aseguradoras, las recetas privadas y los antibióticos obtenidos sin receta médica. Sólo se tuvieron en cuenta las recetas pertenecientes a la sanidad pública, lo cual está estimado según otros estudios en

torno al 60% de los antibióticos reales dispensados (Cars y cols., 2001; Lázaro y cols., 2002). Podemos, por tanto, estar infraestimando el consumo real de antibióticos.

Por otra parte, si bien hemos empleado el término genérico “consumo”, sólo podríamos hablar como tal cuando se realizase un cumplimiento del tratamiento por parte de los pacientes, lo cual no conocemos, y contribuye a las limitaciones de este estudio.

Por último, debido a que las resistencias bacterianas evolucionan a lo largo de un tiempo prolongado, el periodo de estudio para establecer la relación entre el consumo de antibióticos y las tasas de resistencia a los mismos, en los aislados de *S. aureus*, debería haber sido mayor. Sin embargo, antes del año 2004 no existen datos de consumo, debido a que la instalación del programa Farmatools® en el Hospital San Cecilio no se realizó hasta dicho año. En cualquier caso, es evidente la relación inversa entre consumo y sensibilidad.

# **CONCLUSIONES**

1. La tercera parte de los aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* del presente estudio fueron resistentes a meticilina, y casi la totalidad, a penicilina.
2. Vancomicina, teicoplanina, daptomicina y linezolid fueron los únicos antibióticos activos frente a todos los aislados clínicos de *Staphylococcus aureus*, incluyendo aquellos que presentaron resistencia a meticilina. Cotrimoxazol y rifampicina mostraron una actividad ligeramente inferior a los anteriores.
3. El resto de antibióticos, es decir, eritromicina, clindamicina, telitromicina, levofloxacino, tobramicina, amikacina y gentamicina, presentaron una actividad moderada, destacando la mayor sensibilidad de los aislados de *Staphylococcus aureus* a este último.
4. Los aislados clínicos de *Staphylococcus aureus* procedentes del Hospital Nuestra Señora de Valme fueron más sensibles a oxacilina, amoxicilina-clavulánico, cefazolina, eritromicina, clindamicina, telitromicina y levofloxacino, que los procedentes del Hospital San Cecilio.
5. Ampicilina, vancomicina, teicoplanina, daptomicina y linezolid fueron activos frente a todos los aislados clínicos de *Enterococcus* spp., sin diferencias relevantes entre los patrones de sensibilidad para estos antibióticos, entre ambos hospitales.



6. Ampicilina, cefotaxima, vancomicina, daptomicina y linezolid fueron activos frente a todos los aislados clínicos de *Streptococcus agalactiae*. Levofloxacinó mostró una actividad ligeramente inferior. Eritromicina y clindamicina presentaron una actividad moderada. No hubo diferencias relevantes entre los patrones de sensibilidad, para todos estos antibióticos, entre ambos hospitales.
7. Destaca, en este estudio, el elevado porcentaje de resistencia constitutiva a macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B, tanto en *Staphylococcus aureus* como en *Streptococcus agalactiae*.
8. Tigeciclina fue activa frente a todos los aislados de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* multirresistentes obtenidos en el Hospital San Cecilio, con valores de concentración mínima inhibitoria muy bajos, independientemente de la resistencia de estos microorganismos a otros grupos antibióticos como betalactámicos, aminoglucósidos, fluorquinolonas, macrólidos o lincosamidas. Por tanto, tigeciclina es, actualmente, una buena alternativa terapéutica frente a infecciones por estos microorganismos.
9. Existe, de forma estadísticamente significativa, una relación inversa entre el consumo de antibióticos, tanto a nivel hospitalario como extrahospitalario, y la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* a los mismos, es decir, a mayor consumo, menor porcentaje de aislados sensibles, al menos, en esta especie bacteriana.

# **BIBLIOGRAFÍA**

- Abasolo-Osinaga E, Abecia-Inchaurregui LC, Bañares-Onraita MT y cols. Dispensación y coste de antimicrobianos en España (1998-2000). *Rev Esp Quimioterap.* 2005; 18: 300-307.
- AEMPS. Comunicación sobre riesgos de medicamentos a profesionales sanitarios. Ref: 2006/1, 13 de marzo de 2006. Uso de asociación de amoxicilina/clavulánico y riesgo de hepatotoxicidad. ([www.agemed.es/actividad/alertas/usoHumano/seguridad/amoxiclavulanico.htm](http://www.agemed.es/actividad/alertas/usoHumano/seguridad/amoxiclavulanico.htm))
- Albrecht R. Development of antibacterial agents of the nalidixic type. *Prog Drug Res.* 1997; 21: 99-104.
- Alekshun MN y Levy SB. Commensals upon us. *Biochem Pharmacol.* 2006; 71: 893-900.
- Almirante B. Bacteriemia e infecciones endovasculares por grampositivos: nuevas opciones terapéuticas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; 26: 44-52.
- Alós JI. Quinolonas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21: 261-268.
- Amstey MS y Gibbs RS. Is penicillin G a better choice than ampicillin for prophylaxis of neonatal group B streptococcal infections? *Obstet Gynecol.* 1994; 84: 1058-1059.
- Andrews JI, Diekema DJ, Hunter SK y cols. Group B streptococci causing neonatal bloodstream infection: antimicrobial susceptibility and serotyping results from SENTRY centers in the Western Hemisphere. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 183: 859-862.
- Aparicio P, Richardson J, Martin S y cols. An epidemic methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* in Spain. *Epidemiol Infect.* 1992; 108: 287-298.
- Ariza J, Pujol M, Cabo J y cols. Vancomycin in surgical infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin. *Lancet.* 1999; 353: 1587-1588.

- Arthur M y Courvalin P. Genetics and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1993; 37: 1563-1571
- Arthur M, Reynolds P y Courvalin P. Glycopeptide resistance in enterococci. *Trends Microbiol.* 1996; 4: 401-407.
- Asensio A, Cantón R, Vaqué J y cols. Nosocomial and community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in hospitalized patients (Spain, 1993-2003). *J Hosp Infect.* 2006; 63: 465-471.
- Baker CN, Stocker SA, Culver DH y cols. Comparison of the E-test to agar dilution, broth microdilution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. *J Clin Microbiol.* 1991, 29: 533-538.
- Balboa P, Zamorano J, Assef M y cols. Infecciones neonatales recurrentes por *Streptococcus agalactiae*. *Rev Chil Infect.* 2000; 17: 139-144.
- Baltch AL, Smith RP, Ritz WJ y cols. Inhibitory and bactericidal effects of telithromycin (HRM 3647, RU 56647) and five comparative antibiotics , used singly and in combination, against vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococci. *Chemotherapy.* 2001; 47: 250-260.
- Baquero F. Antibiotic resistance in Spain: what can be done? Task Force of the General Direction for Health Planning of the Spanish Ministry of Health. *Clin Infect Dis.* 1996; 23: 819-823.
- Baquero F. Gram-positive resistance: challenge for the development of new antibiotics. *J Antimicrob Chemother.* 1997; 39: 1-6.
- Baquero F y Campos J. The tragedy of the commons in antimicrobial chemotherapy. *Rev Esp Quimioter.* 2003; 16: 11-3.
- Baquero F, Coque TM y Cantón R. Antibiotic, complexity, and evolution. *ASM News* 2003; 69: 547-552.

- Barbero-González A, Pastor-Sánchez R, del Arco-Ortiz de Zárate J y cols. Demanda médica de medicamentos de prescripción sin receta médica. *Aten Primaria*. 2006; 37: 78-87.
- Barna JC y Williams DH. The structure and mode of action of glycopeptide antibiotics of the vancomycin group. *Annu Rev Microbiol*. 1984; 38: 339-357.
- Bauer G, Berens C, Projan SJ y cols. Comparison of tetracycline and tigecycline binding to ribosomes mapped by dimethylsulphate and drug-directed Fe<sup>2+</sup> cleavage of 16S rRNA. *J Antimicrob Chemother*. 2004; 53: 592-599.
- Bayer AS, Morrison JO y Kwang-Sik K. Comparative in vitro bactericidal activity of Cefonicid, Ceftizoxime, and Penicillin against group B streptococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 1982; 21: 344-346.
- Beam JW y Buckley B. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: prevalence and risk factors. *J Ath Train*. 2006; 41: 337-340.
- Bergeron J, Ammairati M, Danley D y cols. Glycylcyclines bind to the high-affinity tetracycline ribosomal binding site and evade Tet(M)- and Tet(O)-mediated ribosomal protection. *Antimicrob Agents Chemother*. 1996; 40: 2226-2228.
- Betriú C, Culebras E, Gomez M y cols. Erythromycin and clindamycin resistance and telithromycin susceptibility in *Streptococcus agalactiae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47: 1112-1114.
- Betriú C, Culebras E, Rodríguez-Avial I y cols. In vitro activities of Tigecycline against erythromycin-resistant *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus agalactiae*: Mechanisms of macrolide and tetracycline resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004; 48: 323-325.
- Betriú C, Gómez M, Sánchez A y cols. Antibiotic resistance and penicillin tolerance in clinical isolates of group B streptococci. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994; 38: 2183-2186.

- Betriú C y Picazo JJ. Glucopéptidos y oxazolidinonas. En: Antimicrobianos en medicina (2ª Edición). Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 2006: 227-236.
- Betriú C, Redondo M, Palau ML y cols. Comparative in vitro activities of Linezolid, Quinupristin-Dalfopristin, Moxifloxacin, and Trovafloxacin against erythromycin-susceptible and -resistant streptococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44: 1838-1841.
- Betriú C, Rodríguez-Avial I, Gomez M y cols. Antimicrobial activity of tigecycline against clinical isolates from Spanish medical centers. Second multicenter study. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2006; 56: 437-444.
- Bint AJ, George RH, Healing DE y cols. An outbreak of infection caused by a gentamicin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Pathol.* 1977; 30: 165-167.
- Borner K, Hoffken G, Lode H y cols. Pharmacokinetics of ciprofloxacin in healthy volunteers after oral and intravenous administration. *Eur J Clin Microbiol.* 1986; 5: 179-186.
- Broadbent A. Penicillin tolerance in group B streptococci. *J Antimicrob Chemother.* 1984; 13: 396-397.
- Buu-Hoï A, Le Bouguenec C y Horaud T. High-level chromosomal gentamicin resistance in *Streptococcus agalactiae* (Group B). *Antimicrob Agents Chemother.* 1990; 34: 985-988.
- Calderón A, Pascual B y Riu E. Consumo de antimicrobianos y sensibilidad bacteriana en un centro sociosanitario (2003 – 2006). XIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid. 2008.
- Cantón R, Loza E, Morosini MI y cols. Antimicrobial resistance amongst isolates of *Streptococcus pyogenes* and *Staphylococcus aureus* in the PROTEKT antimicrobial surveillance programme during 1999-2000. *J Antimicrob Chemother.* 2002; 50: 9-24.

- Cantón R, Morosini MI, Loza E y cols. Mecanismos de multirresistencia e importancia actual en microorganismos grampositivos y gramnegativos. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006; 5: 3-16.
- Cantón R, Pérez-Vázquez M, Oliver A y cols. Evaluation of the Wider system, a new computer-assisted image-processing device for bacterial identification and susceptibility testing. *J Clin Microbiol*. 2000; 38: 1339-1346.
- Cantón R, Valdezate S y Mir M. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos. En: *Antimicrobianos en medicina (1ª Edición)*. Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 1999; 41-72.
- Capellà D. Descriptive tools and analysis. *WHO Reg Publ Eur Ser*. 1993; 45: 55-78.
- Carmona PM, Romá E, Monte J y cols. Papel de linezolid en terapéutica antimicrobiana. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2003; 21: 30-41.
- Cars O, Mölsted S y Melander A. Variation in antibiotic use in the European Union. *Lancet*. 2001; 357: 1851-1853.
- Casal M. Antimicobacterianos. En: *Antimicrobianos en medicina (2ª Edición)*. Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 2006: 309-320.
- Center for Disease Control and Prevention. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin-United States 1989-1993. *Morb Mortal Wkly Rep*. 1993; 45: 597-599.
- Center for Disease Control and Prevention. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. *Morb Mortal Wkly Rep*. 2002; 51: 1- 22.
- Cercenado E, García-Garrote F y Bouza E. In vitro activity of linezolid against multiply resistant Gram-positive clinical isolates. *J Antimicrob Chemother*. 2001; 47: 77-81.
- Cercenado E, García-Leoni ME, Rodeño P y cols. Ampicillin-resistant enterococci. *J Clin Microbiol*. 1990; 28: 829.

- Cercenado E, Sánchez-Carrillo C, Alcalá L y cols. Current status of resistance of *Staphylococcus* in Spain. 4th National Study (1996). Work Group on the Study of *Staphylococcus*. Rev Clin Esp. 1997; 197: 12-28.
- Chadwick PR y Oppenheim BA. Controlling glycopeptide-resistant enterococci. Clin Microbiol Infect. 1997; 3: 7-11.
- Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin Microbiol Rev. 1997; 10: 781-791.
- Chambers HF. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*? Emerg Infect Dis. 2001; 7: 178-182.
- Chang S, Sievert DM, Hageman JC y cols. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing *vanA* resistance gen. New Engl J Med. 2003; 348: 1342-1347.
- Chaves Sánchez F, Daskalaki M y Otero JR. Epidemiología de las infecciones por grampositivos multirresistentes. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2008; 26: 4-12.
- Chenoweth CE, Robinson KA y Schaberg DR. Efficacy of ampicillin versus trimethoprim-sulfamethoxazole in a mouse model of lethal enterococcal peritonitis. Antimicrob Agents Chemother. 1990; 34: 1800-1802.
- Chopra I. Glycylcyclines: third-generation tetracycline antibiotics. Curr Opin Pharmacol. 2001; 1: 464-469.
- Clancy J, Dib-Hajj F, Petitpas J y cols. Cloning and characterization of a novel macrolide efflux gene, *mreA*, from *Streptococcus agalactiae*. Antimicrob Agents Chemother. 1997; 41: 2719-2723.
- Clark NC, Weigel LM, Patel JB y cols. Comparison of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Michigan and Pennsylvania. Antimicrob Agents Chemother. 2005; 49: 470-472.



- Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement. CLSI document M100-S17. Clinical and Laboratory Standards Institute; Wayne, Pennsylvania, 2007.
- Cohen SP, Hooper DC, Wolfson JS y cols. Endogenous active efflux of norfloxacin in susceptible *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1988; 32: 1187-1191.
- Colomina J, Domínguez V, Orta N y cols. *Á*lisis de resistencias bacterianas versus consumo de antibióticos intrahospitalarios. XIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid. 2008.
- Cormican MG y Jones RN. Emerging resistance to antimicrobial agents in gram-positive bacteria. Enterococci, staphylococci and nonpneumococcal streptococci. *Drugs.* 1996; 51: 6-12.
- Cottagnoud P. Daptomycin: a new treatment for insidious infections due to gram-positive pathogens. *Swiss Med Wkly.* 2008; 138: 93-99.
- Critchley IA, Draghi DC, Sahm DF y cols. Activity of daptomycin against susceptible and multidrug-resistant gram-positive pathogens collected in the SECURE study (Europe) during 2000–2001. *J Antimicrob Chemother.* 2003; 51: 639-649.
- Cuevas O, Cercenado E, Goyanes MJ y cols. *Staphylococcus* spp. en España: situación actual y evolución de la resistencia a antimicrobianos (1986-2006). *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; 26: 269-277.
- Cuevas O, Cercenado E, Vindel A y cols. Evolution of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. in Spain: five nationwide prevalence studies, 1986 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48: 4240-4245.
- Cui L, Ma X, Sato K y cols. Cell wall thickening is a common feature of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 5-14.

- Cui L, Tominaga E, Neoh H y cols. Correlation between reduced daptomycin susceptibility and vancomycin resistance in vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006; 50: 1079-1082.
- Dámaso L. Tetraciclinas y anfenicoles. En: *Antimicrobianos en medicina* (2ª Edición). Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 2006: 237-254.
- Dancer SJ, Coyne M, Robertson C y cols. Antibiotic use is associated with resistance of environmental organisms in a teaching hospital. *J Hosp Infect*. 2006; 62: 200-206.
- Davies JE. Aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics and their modifying enzymes. En: Lorian V (Ed.). *Antibiotics in laboratory medicine*. Williams and Wilkins, Baltimore 1980; 474-505.
- Davies JE. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. *Ciba Found Symp*. 1997; 207: 15-27.
- Davies JE y Wright CG. Bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics. *Trends Microbiol*. 1997; 5: 234-240.
- Davis BD. The mechanisms of the bactericidal action of aminoglycosides. *Microbiol Rev*. 1987; 51: 341-350.
- de Jonge BL y Tomasz A. Abnormal peptidoglycan produced in a methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* grown in the presence of methicillin: functional role for penicillin-binding protein 2A in cell wall synthesis. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993; 37: 342-346.
- de la Rosa M, Martínez-Brocal A y Navarro JM. Lincosamidas y estreptograminas. En: *Antimicrobianos en medicina* (2ª Edición). Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 2006: 219-226.
- de Lencastre H, Jonge LN, Matthews PR y cols. Molecular aspects of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*. 1994; 33: 7-24.

- de Lencastre H, Wu SW, Pinho MG y cols. Antibiotic resistance as a stress response: complete sequencing of a large number of chromosomal loci in *Staphylococcus aureus* strain COL that impact on the expression of resistance to methicillin. *Microb Drug Resist.* 1999; 5: 163-175.
- Delialioglu N, Aslan G, Ozturk C y cols. Inducible clindamycin resistance in staphylococci isolated from clinical samples. *Jpn J Infect Dis.* 2005; 58: 104-106.
- Denis O, Deplano A, Nonhoff C y cols. In vitro activities of ceftobiprole, tigecycline, daptomycin, and 19 other antimicrobials against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from a national survey of Belgian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 2680-2685.
- Deplano A, Witte W, van Leeuwen WJ y cols. Clonal dissemination of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Belgium and neighboring countries. *Clin Microbiol Infect.* 2000; 6: 239-245.
- Deshpande LM, Fristche TR, Moet GJ y cols. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of vancomycin-resistant enterococci from North America and Europe: a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007; 58: 163-170.
- Dholakia N, Rolston KV, Ho DH y cols. Susceptibilities of bacterial isolates from patients with cancer to levofloxacin and other quinolones. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994; 38: 848-852.
- Diederer BM, Van Duijn I, Willense P y cols. In vitro activity of daptomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, including heterogeneously glycopeptides-resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 3189-3191.
- Díez P y Calderón V. Empleo de antibióticos en veterinaria. *Rev Esp Quimioter* 1997; 46: 436-470.

- Dina J, Malbruny B y Leclercq R. Nonsense mutations in the *lsa*-like gene in *Enterococcus faecalis* isolates susceptible to lincosamides and streptogramins A. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 2307-2309.
- Dirección General de Aseguramiento y Planificación Sanitaria. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias. Ministerio de Sanidad y Consumo. Informe sobre resistencia microbiana: ¿qué hacer? *Med Clin (Barc).* 1995; 106: 267-279.
- Dominguez MA, de Lencastre H, Linares J y cols. Spread and maintenance of a dominant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clone during an outbreak of MRSA disease in a Spanish hospital. *J Clin Microbiol.* 1994; 32: 2081-2087.
- Domínguez-Luzón MA y Pujol-Rojo M. Cambios en la epidemiología de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Recomendaciones para el control de su diseminación. Documentos de Consenso del Control de Calidad de la SEIMC. 2002. Disponible en: <http://www.seimc.org> [acceso 30 de junio de 2008].e
- Elsner HA, Sobottka I, Feurch HH y cols. In vitro susceptibilities of enterococcal blood cultures isolates from the Hamburg area to ten antibiotics. *Chemotherapy.* 2000; 46: 104-110.
- Enright MC, Robinson DA, Randle G y cols. The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99: 7687-7692.
- Entenza JM, Voulliamoz J, Glauser MP y cols. Levofloxacin versus ciprofloxacin, flucloxacillin or vancomycin for treatment of experimental endocarditis due to methicillin-susceptible or resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41: 1662-1667.
- European Medicines Agency (EMA). Informe EPAR H-637-II-05-AR sobre Daptomicina. 2007.

- Ferech M, Coenen S, Dvorakova K y cols. European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient penicillin use in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 58: 408-412.
- Fernandes PB y Garmaise D. Resistance to erythromycin. *J Antimicrob Chemother.* 1987; 20: 449-450.
- Fernández M, Hickman ME y Baker CJ. Antimicrobial susceptibilities of group B streptococci isolated between 1992 and 1996 from patients with bacteremia or meningitis. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42: 1517-1519.
- Fluit AC, Schmitz FJ, Verhoef J y cols. In vitro activity of daptomycin against gram-positive European clinical isolates with defined resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004; 48: 1007-1011.
- Food and Drug Administration (FDA). Informe CDER N021572 sobre Daptomicina. 2003. Disponible en <http://www.fda.gov/cder/rdmt/nmecy2003.htm> (última consulta 3 de junio de 2008)
- Fournier B y Hooper DC. Mutations in topoisomerase IV and DNA gyrase of *Staphylococcus aureus*: novel pleiotropic effects on quinolone and coumarin activity. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42: 121-128.
- Friedman L, Alder JD y Silverman JA. Genetic changes that correlate with reduced susceptibility to daptomycin in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006; 50: 2137-2145.
- Fritsche TR, Sader HS, Stilwell MG y cols. Potency and spectrum of tigecycline tested against an international collection of bacterial pathogens associated with skin and soft tissue infections (2000–2004). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2005; 52: 195-201.
- Frosolono M, Hodel-Christian SL y Murray BE. Lack of homology of enterococci which have high-level resistance to trimethoprim with the *dfrA* gene of *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991; 35: 1928-1930.

- Gales AC y Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of the new glycylcycline, GAR-936 tested against 1,203 recent clinical bacterial isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2000; 36: 19-36.
- García-Rodríguez JA y Rodríguez-Sánchez E. El resurgimiento de los grampositivos: razones, significado clínico y posibilidades de control. *Rev Clin Esp.* 2007; 197: 3-11.
- Gaynes R y Monnet D. The contribution of antibiotic use on the frequency of antibiotic resistance in hospitals. En: *Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread.* Ciba Foundation Symposium 207. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, Inglaterra 1997; 47-60.
- Gemmell CG. Susceptibility of a variety of clinical isolates to linezolid: a European inter-country comparison. *J Antimicrob Chemother.* 2001, 48: 47-52.
- Giamarellou H y Antoniadou A. The effect of monitoring of antibiotic use on decreasing antibiotic resistance in the hospital. En: *Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread.* Ciba Foundation Symposium 207. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, Inglaterra 1997; 76-92.
- Gillespie SH y McHugh TD. The biological cost of antimicrobial resistance. *Trends Microbiol.* 1997; 5: 337-339.
- Gobernado M. Resistencias bacterianas y un nuevo antibiótico: la tigeciclina. *Rev Esp Quimioterap.* 2006; 19: 209-219.
- Gobernado M, Salavert M y Santos M. Quinolonas. En: *Antimicrobianos en medicina (2ª Edición).* Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 2006: 271-300.
- Gold HS y Moellering RC. Drug therapy: antimicrobial-drug resistance. *N Engl J Med.* 1996; 335: 1445-1453.
- Gómez AC, Blanco MT, Morán FJ y cols. Nitroimidazoles, sulfamidas, diaminopirimidinas y asociaciones. En: *Antimicrobianos en medicina (2ª*

- Edición). Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 2006: 301-308.
- Gómez-Lus R, Goñi P y Seral C. Aminoglucósidos-aminociclitolos. En: Antimicrobianos en medicina (2ª Edición). Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 2006: 189-198.
- Gonzales RD, Schreckenberger PC, Graham MB y cols. Infections due to vancomycin resistant *Enterococcus faecium* resistant to linezolid. Lancet. 2001; 357: 1179.
- González JJ, Andreu A, Alomar P y cols. Susceptibility of vertically transmitted group B streptococci to antimicrobial agents. Multicenter study. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2004; 22: 286-291.
- Goodhart GL. In vivo v in vitro susceptibility of enterococcus to trimethoprim-sulfamethoxazole. JAMA. 1984; 252: 2748-2749.
- Goossens H. European status of resistance in nosocomial infections. Chemotherapy. 2005; 51: 177-181.
- Goossens H, Ferech M, Stichele R y cols. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. Lancet. 2005; 365: 579-587.
- Gould IM. A review of the role of antibiotics polivies in the control of antibiotic resistance. J Antimicrob Chemother. 1999; 43: 459-465.
- Grau S, Álvarez-Lerma F, Marín M y cols. Problemática y soluciones actuales en el tratamiento de las infecciones por microorganismos grampositivos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2001; 19: 393-398.
- Grayson ML, Thauvin-Eliopoulos C, Eliopoulos GM y cols. Failure of trimethoprim-sulfamethoxazole therapy in experimental enterococcal endocarditis. Antimicrob Agents Chemother. 1990; 34: 1792-1794.

- Gutiérrez N y Fresnadillo MJ. Penicilinas y otros betalactámicos. En: Antimicrobianos en medicina (2ª Edición). Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 2006; 117-136.
- Hamilton-Miller JMT y Shah S. Patterns of phenotypic resistance to the macrolide-lincosamide-ketolide-streptogramin group of antibiotics in staphylococci. J Antimicrob Chemother. 2000; 46: 941-949.
- Hanberger H, Diekema D, Fluit A y cols. Surveillance of antibiotic resistance in European ICUs. J Hosp Infect. 2001; 48: 161-176.
- Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T y cols. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J Antimicrob Chemother. 1997a; 40: 135-136.
- Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H y cols. Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin. Lancet. 1997b; 350: 1670-1673.
- Hoban DJ, Bouchillon SK, Johnson BM y cols. In vitro activity of tigecycline against 6792 Gram-negative and Gram-positive clinical isolates from the global Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST Program, 2004). Diagn Microbiol Infect Dis. 2005; 52: 215-227.
- Hoellman DB, Lin G, Jacobs MR y cols. Activity of HRM 3647 compared to those of six compounds against 235 strains of *Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother. 1999; 43: 166-168.
- Hong T, Li X, Wang J y cols. Sequential linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* isolates with G2576T mutation. J Clin Microbiol. 2007; 45: 3277-3280.
- Hooper DC y Wolfson JS. Mechanism of quinolone action and bacterial killing. Quinolone Antimicrobial Agents, 2<sup>nd</sup> Ed. American Society for Microbiology, Washington DC 1993; 3-52.



- Horaud T, De Cespedes G y Trieu-Cuot P. Chromosomal gentamicin resistance transposon *Tn3706* in *Streptococcus agalactiae* B128. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40: 1085-1090.
- Hughes VM y Datta N. Conjugative plasmids in bacteria of the 'preantibiotic' era. *Nature.* 1983; 302: 725-726.
- Huovinen P, Sundström L, Swedberg G y cols. Trimethoprim and sulfonamide resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39: 279-289.
- Huycke MM, Sahn DF y Gilmore MS. Multiply resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. *Emerg Infect Dis.* 1998; 4: 239-249.
- Ito A, Hirai K, Inoue M y cols. In vitro antibacterial activity of AM 715, a new nalidixic acid analog. *Antimicrob Agents Chemother.* 1980; 17: 103 – 108.
- Ito T, Okuma K, Ma XX y cols. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist Updat.* 2003; 6: 41-52.
- Jacobs MR, Kelly F y Speck WT. Susceptibility of Group B Streptococci to 16, 3-lactam antibiotics, including new penicillin and cephalosporin derivatives. *Antimicrob Agents Chemother.* 1982; 22: 897-900.
- Jevons MP. "Celbenin-resistant" staphylococci. *BMJ.* 1961; 1: 124-125.
- Johnson CC, Slavoski L, Schwartz M y cols. In vitro activity of RP 59500 (Quinupristin/Dalfopristin) against antibiotic-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae* and enterococci. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1995; 21: 169-173.
- Johnson AP, Tysall L, Stockdale MV y cols. Emerging linezolid-resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolated from two Austrian patients in the same intensive care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002; 21: 751-754.

- Jones T, Yeaman MR, Saloukas G y cols. Failures in clinical treatment of *Staphylococcus aureus* infection with daptomycin are associated with alterations in surface charge, membrane phospholipid asymmetry, and drug binding. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52: 269-278.
- Jorgen B, Merckoll P y Melby KK. Susceptibility to daptomycin, quinupristin-dalfopristin and linezolid and some other antibiotics in clinical isolates of methicillin-resistant and methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* from the Oslo area. *Scand J Infect Dis.* 2007; 39: 1059-1062.
- Kaatz GW, Lundstrom TS y Seo SM. Mechanisms of daptomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents.* 2006; 28: 280-287.
- Kawamura Y, Fujiwara H, Mishima N y cols. First *Streptococcus agalactiae* isolates highly resistant to quinolones, with point mutations in *gyrA* and *parC*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 3605-3609.
- Kelly S, Collins J, Maguire M y cols. An outbreak of colonization with linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in an intensive therapy unit. *J Antimicrob Chemother.* 2008; 61: 901-907.
- Kim KS y Anthony BF. Penicillin tolerance in group B streptococci isolated from infected neonates. *J Infect Dis.* 1981; 144: 411-419.
- King A, Phillips I y Kaniga K. Comparative in vitro activity of telavancin (TD-6424), a rapidly bactericidal, concentration-dependent anti-infective with multiple mechanisms of action against Gram-positive bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 53: 797-803.
- Krzyszton-Russjan J, Gniadkowski M, Polowniak-Pracka H y cols. The first *Staphylococcus aureus* isolates with reduced susceptibility to vancomycin in Poland. *J Antimicrob Chemother.* 2002; 50: 1065-1069.
- Lázaro E, Madurga M y de Abajo FJ. Evolución del consumo de antibióticos en España, 1985 - 2000. *Med Clin (Barc).* 2002; 118: 561-568.

- Leavis HL, Bonten MJ y Willems RJ. Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol.* 2006; 9: 454-460.
- Leclercq R y Courvalin P. Intrinsic and unusual resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991a; 35: 1273-1276.
- Leclercq R y Courvalin P. Bacterial resistance to macrolide, lincosamide, and streptogramin antibiotics by target modification. *Antimicrob Agents Chemother.* 1991b; 35: 1267-1272.
- Leclercq R y Courvalin P. Resistance to glycopeptides in enterococci. *Clin Infect Dis.* 1997; 24: 545-554.
- Leclercq R, Derlot E, Duval J y cols. Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *N Eng J Med.* 1988; 319: 157-161.
- Leshner GY, Froelich EJ, Gruett MD y cols. 1, 8-naphthyridine derivatives: a new class of chemotherapeutic agents. *J Med Chem.* 1962; 5: 1063-1065.
- Levy SB. Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992; 36: 695-703.
- Levy SB. Antibiotic resistance: an ecological imbalance. En: *Antibiotic resistance: origins, evolution, selection and spread.* Ciba Foundation Symposium 207. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, Inglaterra 1997; 1-9.
- Liddy H y Holliman R. Group B *Streptococcus* highly resistant to gentamicin. *J Antimicrob Chemother* 2002; 50: 142-143.
- Ligozzi M, Pittaluga F y Fontana R. Modification of penicillin-binding protein 5 associated with high-level ampicillin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996; 40: 354-357.

- Lim D y Strynadka NC. Structural basis for the beta-lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat Struct Biol. 2002; 9: 870-876.
- Lipsitch M, Bergstrom CT y Levin BR. The epidemiology of antibiotic resistance in hospitals: paradoxes and prescriptions. Proc Natl Acad Sci USA. 2000; 97: 1938-1943.
- Livermore DM, Struelens M, Amorim J y cols. Multicentre evaluation of the VITEK2 Advanced Expert System for interpretive reading of antimicrobial resistance tests. J Antimicrob Chemother. 2002; 49: 289-300.
- Long KS, Poehlsgaard J, Kehrenberg C y cols. The Cfr rRNA methyltransferase confers resistance to phenicols, lincosamides, oxazolidinones, pleuromutilins, and streptogramin A antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50: 2500-2505.
- Loza E, Cantón R, Pascual A y cols. Actividad *in vitro* comparativa de garenoxacino (BMS-284756). Programa SENTRY España (1999-2000). Enferm Infecc Microbiol Clin. 2003; 21: 404-409.
- Luh KT, Hsueh PR, Teng LJ y cols. Quinupristin-dalfopristin resistance among gram-positive bacteria in Taiwan. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44: 3374-3380.
- Lyon BR y Skurray R. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus*: genetic basis. Microbiol Rev. 1987; 51: 88-134.
- Ma XX, Ito T, Tiensasitorn C y cols. Novel type of staphylococcal cassette chromosome *mec* identified in community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46: 1147-1152.
- Malani PN, Thal L, Donabedian SM y cols. Molecular analysis of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* from Michigan hospitals during a 10 year period. J Antimicrob Chemother. 2002; 49: 841-843.

- Marín M y Gudiol F. Antibióticos betalactámicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21: 45-55.
- Martínez L. Métodos de estudio y valoración de los antimicrobianos. En: *Antimicrobianos en medicina (1ª Edición)*. Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 1999; 99-107.
- Martínez-Odrizola P, Muñoz-Sánchez J, Gutiérrez-Macías A y cols. An analysis of 182 enterococcal bloodstream infections: epidemiology, microbiology, and outcome. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007; 25: 503-507.
- Mato R, Santos Sanches I, Venditti M y cols. Spread of the multiresistant Iberian clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) to Italy and Scotland. *Microb Drug Resist.* 1998; 4: 107-112.
- Mazzei T, Mini E, Novelli A y cols. Chemistry and mode of action of macrolides. *J Antimicrob Chemother.* 1993; 31: 1-9.
- McCracken GH. New concepts in the management of infants and children with meningitis. *Pediatr Infect Dis.* 1983; 2: 51-55.
- McDonald L y Jarvis WR. The global impact of vancomycin-resistant enterococci. *Curr Opin Infect Dis.* 1997; 10: 304-309.
- McDougall C, Powell JP, Johnson CK y cols. Hospital and community fluoroquinolone use and resistance in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in 17 US hospitals. *Clin Infect Dis.* 2005; 41: 435-440.
- McGowan JE. Antimicrobial resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. *Rev Infect Dis.* 1983; 5: 1033-1048.
- Meka VG, Pillai SK, Sakoulas G y cols. Linezolid resistance in sequential *Staphylococcus aureus* isolates associated with a T2500A mutation in the 23S rRNA gene and loss of a single copy of rRNA. *J Infect Dis.* 2004; 190: 311-317.

- Melter O, Santos Sanches I, Schindler J y cols. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal types in the Czech Republic. *J Clin Microbiol.* 1999; 37: 2798-2803.
- Merino-Díaz L, Cantos de la Casa A, Torres-Sánchez MJ y cols. Detección de resistencia inducible a clindamicina en aislados cutáneos de *Staphylococcus* spp. por métodos fenotípicos y genotípicos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007; 25: 77-81.
- Meyn LA y Hillier SL. Ampicillin susceptibilities of vaginal and placental isolates of group B *Streptococcus* and *Escherichia coli* obtained between 1992 and 1994. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41: 1173-1174.
- Milatovic D, Schmitz FJ, Verhoef J y cols. Activities of the Glycylcycline Tigecycline (GAR-936) against 1,924 recent European clinical bacterial isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003; 47: 400-404.
- Miró E, Rebollo M, Rivera A y cols. *Streptococcus agalactiae* altamente resistente a fluoroquinolonas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2006; 24: 562-563.
- Moet GJ, Jones RN, Biedenbach DJ y cols. Contemporary causes of skin and soft tissue infections in North America, Latin America, and Europe: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998–2004). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007; 57: 7-13.
- Mollerach A, Méndez E, Massa R y cols. *Streptococcus agalactiae* aislados en Santa Fe, Argentina: estudio de la sensibilidad a antibióticos de uso clínico y mecanismos de resistencia a eritromicina y clindamicina. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007; 25: 66-70.
- Muller AA, Mauny F, Bertin M y cols. Relationship between spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and antimicrobial use in a French university hospital. *Clin Infect Dis.* 2003; 36: 971-978.

- Muñoz-Bellido JL, Alonzo MM, Martínez JA y cols. Efflux pump-mediated quinolone resistance in *Staphylococcus aureus* strains wild type for *gyrA*, *gyrB*, *griA* and *NorA*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999; 43: 354-356.
- Murchan S, Kaufmann ME, Deplano A y cols. 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 spread of related strains. *J Clin Microbiol.* 2003; 41: 1574-1585.
- Murray BE. New aspects of antimicrobial resistance and the resulting therapeutic dilemmas. *J Infect Dis.* 1991; 163: 1184-1194.
- Murray BE y Mederski-Samaroj B. Transferable beta-lactamase. A new mechanism for in vitro penicillin resistance in *Streptococcus faecalis*. *J Clin Invest.* 1983; 72: 1168-1171.
- Mutnick AH, Biedenbach DJ y Jones RN. Geographic variations and trends in antimicrobial resistance among *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2000). *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003; 46: 63-68.
- Najjar A y Murray BE. Failure to demonstrate a consistent in vitro bactericidal effect of trimethoprim-sulfamethoxazole against enterococci. *Antimicrob Agents Chemother.* 1987; 31: 808-810.
- Neu H. The crisis in antibiotics resistance. *Science* 1992; 257: 1064-1073.
- Noble WC, Virani Z y Cree RG. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from *Enterococcus faecalis* NCTN 12201 to *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol Lett.* 1992; 93: 195-198.
- Norrby R. Linezolid--a review of the first oxazolidinone. *Expert Opin Pharmacother.* 2001; 2: 293-302.

- Okuma K, Iwakawa K, Turnidge JD y cols. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. J Clin Microbiol. 2002; 40: 4289-4294.
- Organización Mundial de la Salud. Perspectivas políticas de la OMS sobre medicamentos: la contención de la resistencia a los antimicrobianos. OMS; 2005 (WHO/PSM/2005.1).
- Oteo J, Baquero F, Vindel A y cols. Antibiotic resistance in 3113 blood isolates of *Staphylococcus aureus* in 40 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2000-2002). J Antimicrob Chemother. 2004; 53: 1033-1038.
- Oteo J, Cuevas O, Navarro C y cols. Trends in antimicrobial resistance in 3469 enterococci isolated from blood (EARSS experience 2001-06, Spain): increasing ampicillin resistance in *Enterococcus faecium*. J Antimicrob Chemother. 2007; 59: 1044-1045.
- Oteo J, Cruchaga S, Campos J y cols. Antibiotic resistance in blood isolates of *Staphylococcus aureus* in 31 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2000). Med Clin (Barc). 2002; 119: 361-365.
- Pace JL, Krause K, Johnston D y cols. In vitro activity of TD-6424 against *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47: 3602-3604.
- Panlilio AL, Culver DH, Gaynes RP y cols. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. Infect Control Hosp Epidemiol. 1992; 13: 582-586.
- Pallarés R, Pujol M, Peña C y cols. Cephalosporins as risk factor for nosocomial *Enterococcus faecalis* bacteremia. A matched case-control study. Arch Intern Med. 1993; 153: 1581-1586.
- Palop Larrea V, Melchor Penella A y Marínez Mir I. Reflexiones sobre la utilización de antibióticos en atención primaria. Aten Primaria. 2003; 32: 42-47.



- Pastor-Sánchez R. Alteraciones del nicho ecológico: resistencias bacterianas a los antibióticos. *Gac Sanit.* 2006; 20: 175-181.
- Patel JB, Jevitt LA, Hageman J y cols. An association between reduced susceptibility to daptomycin and reduced susceptibility to vancomycin in *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2006; 42: 1652-1653.
- Patterson JE. Antibiotic utilization: is there an effect on antimicrobial resistance? *Chest.* 2001; 119: 426-430.
- Pearlman MD, Pierson CL y Faix RG. Frequent resistance of clinical group B streptococci isolates to clindamycin and erythromycin. *Obstet Gynecol.* 1998; 92: 258 - 261.
- Pérez-Trallero E, García Arenzana J, Ansa Castañeda A y cols. Unusual multiresistant *Staphylococcus aureus* in a newborn nursery. *Am J Dis Child.* 1981; 135: 689-692.
- Pérez-Trallero E e Iglesias L. Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21: 520-529.
- Perichon B, Reynolds P y Courvalin P. VanD-type glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* BM4339. *Antimicrob Agents Chemother.* 1997; 41: 2016-2018.
- Petersen P, Bradford P, Weiss W y cols. In vitro and in vivo activities of tigecycline (GAR-936), daptomycin, and comparative antimicrobial agents against glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* and other resistant gram-positive pathogens. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46: 2595-2601.
- Petersen PJ, Labthavikul P, Jones CH y cols. In vitro antibacterial activities of tigecycline in combination with other antimicrobial agents determined by checkerboard and time-kill kinetic analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2006; 57: 573-576.

- Pfaller MA, Sader HS y Jones RN. Evaluation of the in vitro activity of daptomycin against 19615 clinical isolates of Gram-positive cocci collected in North American hospitals (2002-2005). *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007; 57: 459-465.
- Picazo JJ. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. *Procedimientos en Microbiología Clínica, recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2000. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/> (Última consulta: 16/01/2007)
- Picazo JJ, Betriú C, Rodríguez-Avial I y cols. Surveillance for antimicrobial resistance: VIRA Study. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002; 20: 503-510.
- Picazo JJ, Betriú C, Rodríguez-Avial I y cols. Surveillance of antimicrobial resistance: VIRA study 2004. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004; 22: 517-525.
- Picazo JJ, Betriú C, Rodríguez-Avial I y cols. Antimicrobial resistance surveillance: VIRA study 2006. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006; 24: 617-628.
- Pigrau C. Oxazolidinonas y glucopéptidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21: 157-165.
- Pillai SK, Sakoulas G, Wennestern C y cols. Linezolid resistance in *Staphylococcus aureus*: Characterization and stability of resistant phenotype. *J Infect Dis*. 2002; 186: 1603-1607.
- Pinho MG, de Lencastre H y Tomasz A. An acquired and a native penicillin-binding protein cooperate in building the cell wall of drug-resistant staphylococci. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98: 10886-10891.
- Reece RJ y Maxwell A. DNA gyrase: structure and function. *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 1991; 26: 335-375.

- Reynolds PE. Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptide antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1989; 8: 943-950.
- Reinscheid DJ, Stösser C, Ehlert K y cols. Influence of proteins Bsp and FemH on cell shape and peptidoglycan composition in group B streptococcus. *Microbiology*. 2002; 148: 3245-3254.
- Rello J. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability of tigecycline. *J Chemother*. 2005; 17: 12-22.
- Reynolds ED y Cove JH. Resistance to telithromycin is conferred by *msr(A)*, *msr(C)* and *msr(D)* in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 13: 1179-1180.
- Roberts MC. Epidemiology of tetracycline-resistance determinants. *Trends Microbiol*. 1994; 2: 353-357.
- Roberts MC. Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. *FEMS Microbiol Rev*. 1996; 19: 1-24.
- Roberts MC, Sutcliffe J, Jensen LB y cols. Nomenclature for macrolide and macrolide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999; 43: 2823-2830.
- Roberts RB, Tennenberg AM, Eisner W y cols. Outbreak in a New York City teaching hospital burn center caused by the Iberian epidemic clone of MRSA. *Microb Drug Resist*. 1998; 4: 175-183.
- Rodríguez-Baño J, Bischofberger C, Álvarez-Lerma F, y cols. Vigilancia y control de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en hospitales españoles. Documento de consenso GEIH-SEIMC y SEMPSPH. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2008; 26: 285-298.

- Ross JI, Eady EA, Cove JH y cols. Identification of a chromosomally encoded ABC-transport system with which the staphylococcal erythromycin exporter MsrA may interact. *Gene*. 1995; 153: 93-98.
- Rouse MS, Steckelberg JM y Patel R. In vitro activity of ceftobiprole, daptomycin, linezolid, and vancomycin against methicillin-resistant staphylococci associated with endocarditis and bone and joint infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007; 58: 363-365.
- Ruggero KA, Schroeder LK, Schreckenberger PC y cols. Nosocomial superinfections due to linezolid-resistant *Enterococcus faecalis*: evidence for a gene dosage effect on linezolid MICs. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003; 47: 511-513.
- Ruiz-Garbajosa P, Coque TM, Cantón R y cols. High-risk clonal complexes CC2 and CC9 are widely distributed among *Enterococcus faecalis* hospital isolates recovered in Spain. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007; 25: 513-518.
- Sader HS, Jones RN, Dowzicky MJ y cols. Antimicrobial activity of tigecycline tested against nosocomial bacterial pathogens from patients hospitalized in the intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2005; 52: 203-208.
- Sader HS, Streit JM, Fritsche TR y cols. Antimicrobial susceptibility of gram-positive bacteria isolated from European medical centres: results of the Daptomycin Surveillance Programme (2002-2004). *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12: 844-852.
- Salgado CD, Farr BM, Calfee DP y cols. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a meta-analysis of prevalence and risk factors. *Clin Infect Dis*. 2003; 36: 131-139.
- Sanches IS, Ramirez M, Troni H y cols. Evidence for the geographic spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone between Portugal and Spain. *J Clin Microbiol*. 1995; 33: 1243-1246.

- Schatz A, Bugie E y Waksman SA. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive bacteria. Proc Soc Exp Biol. 1944; 55: 66-69.
- Schmitz FJ, Higgins PG, Mayer S y cols. Activity of quinolones against gram-positive cocci: Mechanisms of drug action and bacterial resistance. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2002; 21: 647-659.
- Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC y cols. Prevalence of aminoglycoside resistance in 20 european university hospitals participating in the European SENTRY Antimicrobial Surveillance Programme. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1999; 18: 414-421.
- Sevillano D, Alou L y Prieto J. Macrólidos y cetólidos. En: Antimicrobianos en medicina (2ª Edición). Sociedad Española de Quimioterapia. Prous Science, S.A. Barcelona 2006: 199-218.
- Shaw KJ, Rather PN, Share RS y cols. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev. 1993; 57: 138-163.
- Shen LL, Kohlbrenner WE, Weigl D y cols. Mechanism of quinolone inhibition of DNA gyrase. Appearance of unique norfloxacin binding sites in enzyme-DNA complexes. J Biol Chem. 1989; 264: 2973-2978.
- Sieradzki K, Roberts RB, Haber SW y cols. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. N Engl J Med. 1999; 340: 517-523.
- Silverman JA, Perlmutter NG y Shapiro HM. Correlation of daptomycin bactericidal activity and membrane depolarization in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2003; 47: 2538-2544.
- Simoes JA, Aroutcheva AA, Heimler I y cols. Antibiotic resistance patterns of group B streptococcal clinical isolates. Infect Dis Obstet Gynecol. 2004; 12: 1-8.

- Smith RD y Coast J. Antimicrobial resistance: a global response. Bulletin of the World Health Organization. 2002; 80: 126-133.
- Smith TL, Pearson ML, Wilcox KR y cols. Emergence of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. Glycopeptide-Intermediate *Staphylococcus aureus* Working Group. N Engl J Med. 1999; 340: 493-501.
- Sobrino B, Valiente L, Ayala M y cols. Perfil de uso de las quinolonas en pacientes ingresados en un hospital general. XIII Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Madrid. 2008.
- Solé-López J, Rodríguez-Palomar G, Grahit-Vidosa V y cols. Consumo de antibióticos y su posible relación con la resistencia bacteriana en la región sanitaria Costa de Ponent: análisis evolutivo durante los periodos inicial y final de la última década. Aten Primaria. 2004; 34: 128-133.
- Sopena N, García-Núñez M, Prats R y cols. Appearance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) sensitive to gentamicin in a hospital with a previous endemic distinct MRSA. Eur J Epidemiol. 2001; 17: 317-321.
- Soriano F. Nuevos antibióticos frente a grampositivos: linezolid, tigeciclina, daptomicina, dalbavancina, telavancina, ceftibiprole. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2008; 26: 13-20.
- Sorlózano A, Gutiérrez J, Román E y cols. A comparison of the activity of tigecycline against multiresistant clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007; 58: 487-489.
- Sorlózano A, Gutiérrez J, Salmerón A y cols. Activity of tigecycline against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Granada, Spain. Int J Antimicrob Agents. 2006; 28: 532-536.
- Speer BS, Shoemaker NB y Salyers AA. Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. Clin Microbiol Rev. 1992; 5: 387-399.

- Spratt BG. Penicillin-binding proteins and the future of betalactam antibiotics. *J Gen Microbiol.* 1983; 129: 1247-1260.
- Spratt BG. Resistance to antibiotics mediated by target alterations. *Science.* 1994; 264: 388-393.
- Stein G y Craig WA. Tigecycline: a critical analysis. *Clin Infect Dis.* 2006; 43: 518-524.
- Streit JM, Jones RN y Sader HS. Daptomycin activity and spectrum: a worldwide sample of 6737 clinical gram-positive organisms. *J Antimicrob Chemother.* 2004; 53: 669-674.
- Swaney SM, Aoki H, Ganoza MC y cols. The oxazolidinone Linezolid inhibits initiation of protein synthesis in bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42: 3251-3255.
- Swenson JM, Lonsway D, McAllister S y cols. Detection of *mecA*-mediated resistance using reference and commercial testing methods in a collection of *Staphylococcus aureus* expressing borderline oxacillin MICs. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2007; 58: 33-39.
- Tarazona RE, Padilla TP, Gomez JC y cols. First report in Spain of linezolid non-susceptibility in a clinical isolate of *Staphylococcus haemolyticus*. *Int J Antimicrob Agents.* 2007; 30: 277-278.
- The Spanish Society of Obstetrics and Gynecology, The Spanish Society of Neonatology, The Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology y cols. Prevention of perinatal group B streptococcal disease. Spanish revised guidelines. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003; 21: 417-423.
- Thomas JK, Forrest A, Bhavnani SM y cols. Pharmacodynamic evaluation of factors associated with the development of bacterial resistance in acutely ill patients during therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998; 42: 521-527.

- Tipper DJ y Strominger JL. Mechanism of action of peniciline: A proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. Proc Natl Acad Sci USA. 1965; 54: 1133-1141.
- Tomasz A. The mechanism or irreversible antimicrobial effects of penicillin: How the betalactam antibiotics kill and lyse bacteria. Ann Rev Microbiol. 1979; 33: 113-137.
- Tomasz A. "Intelligence coup" for drug designers: crystal structure of *Staphylococcus aureus* beta-lactam resistance protein PBP2A. Lancet. 2003; 361: 795-796.
- Torres C. Lectura interpretada del antibiograma de cocos grampositivos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2002; 20: 354-364.
- Tsigrelis C, Singh KV, Coutinho TD y cols. Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis* endocarditis: Linezolid failure and strain characterization of virulence factors. J Clin Microbiol. 2007; 42: 631-635.
- Tsiodras S, Gold HS, Sakoulas G y cols. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. Lancet. 2001; 358: 207-208.
- Tyrrell KL, Citron DM, Warren YA y cols. In vitro activities of daptomycin, vancomycin, and penicillin against *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Fingoldia magna*, and *Propionibacterium acnes*. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50: 2728-2731.
- Udo EE, Pearman JW y Grubb WB. Genetic analysis of community isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Western Australia. J Hosp Infect. 1993; 25: 97-108.
- Uttley AH, Collins CH, Naidoo J y cols. Vancomycin-resistant enterococci. Lancet. 1988; 1: 57-58.



- Vandenesch F, Naimi T, Enright MC y cols. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9: 978-984.
- Vander Stichele RH, Elseviers MM, Ferech M y cols. Hospital consumption of antibiotics in 15 European countries: results of the ESAC retrospective data collection (1997-2002). *J Antimicrob Chemother.* 2006; 58: 159-167.
- Vindel A, Trincado P, Gómez E y cols. Prevalence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spanish hospital between 1996 and 2002. *J Clin Microbiol.* 2006; 44: 266-270.
- Voss A, Milatovic D, Wallrauch-Schwarz C y cols. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1994; 13: 50-55.
- Vouillamoz J, Entenza JM, Feger C y cols. Quinupristin-dalfopristin combined with beta-lactams for treatment of experimental endocarditis due to *Staphylococcus aureus* constitutively resistant to macrolide-lincosamide-streptogramin B antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000; 44: 1789-1795.
- Waite DC, Alper EJ y Mady BJ. Adult group B streptococcal disease. *Ann Intern Med.* 1996; 125: 152-153.
- Walsh CT, Fisher SL, Park IS y cols. Bacterial resistance to vancomycin: five genes and one missing hydrogen bond tell the story. *Chem Biol.* 1996; 3: 21-28.
- Walsh TR, Bolmström A, Qwörnström A y cols. Evaluation of current methods for detection of staphylococci with reduced susceptibility to glycopeptides. *J Clin Microbiol.* 2001; 39: 2439-2444.
- Weisblum B. Erythromycin resistance by ribosome modification. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995; 39: 577-585.

- Wehbeh W, Rojas-Díaz R, Li X y cols. Fluoroquinolone-resistant *Streptococcus agalactiae*: epidemiology and mechanism of resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49: 2495-2497.
- Wellington K y Noble S. Telithromycin. *Drugs.* 2004; 64: 1683-1694.
- Werner G, Strommenger B, Klare I y cols. Molecular detection of linezolid resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* by use of 5' nuclease real-time PCR compared to a modified classical approach. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 5327-5331.
- Wester CW, Durairaj L, Evans AT y cols. Antibiotic resistance: a survey of physicians perceptions. *Arch Intern Med.* 2002; 162: 2210-2216.
- Westh H, Zinn CS, Rosdahl VT y cols. An international multicenter study of antimicrobial consumption and resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from 15 hospitals in 14 countries. *Microb Drug Resist.* 2004; 10: 169-176.
- WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification index including defined daily doses (DDDs) for plain substances. Oslo, WHO. 1999.
- WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. Anatomical Chemical Classification Index with Defined Daily Doses (DDD's). 2002.
- Williams RAD. Synthesis of nucleic acids as a target for antimicrobials drugs. En: Williams RAD, Lambert PA, Singleton P, (Eds). *Antimicrobial drug action.* βIOS Scientific Publishers Limited, Oxford 1996a; 61-76.
- Williams RAD. Protein synthesis as a target for antibiotics. En: Williams RAD, Lambert PA y Singleton P (Eds). *Antimicrobial Drug Action.* βIOS Scientific Publishers Limited, Oxford 1996b; 77-102.
- Williams RAD. The antimetabolites: Folate metabolism as a target for antimicrobial drugs. En: Williams RAD, Lambert PA, Singleton P (Eds.). *Antimicrobial*

- Drug Action. βIOS Scientific Publishers Limited, Oxford. 1996c; 40: 2820-2823.
- Wilson P, Andrews JA, Charlesworth R y cols. Linezolid resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother. 2003; 51: 186-188.
- Witte W, Kresken M, Braulke C y cols. Increasing incidence and widespread dissemination of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in hospitals in central Europe, with special reference to German hospitals. Clin Microbiol Infect. 1997; 3: 414-422.
- Woodford N, Johnson AP, Morrison D y cols. Current perspectives on glycopeptide resistance. Clin Microbiol Rev. 1995; 8: 585-615.
- Wyeth Pharmaceuticals, Tygacil product insert, Wyeth Pharmaceuticals, Philadelphia, PA. 2005. Disponible en: <http://www.tygacil.com> [acceso 10 de diciembre de 2006].
- Yang W, Moore IF, Koteva KP y cols. TetX is a flavin-dependent monooxygenase conferring resistance to tetracycline antibiotics. J Biol Chem. 2004; 279: 52346-52352.
- Yoshida H, Bogaki M, Nakamura S y cols. Nucleotide sequence and characterization of the *Staphylococcus aureus* *norA* gene, which confers resistance to quinolones. J Bacteriol. 1990; 172: 6942-6949.
- Zhanel GG, Homenuik K, Nichol K y cols. The glycylcyclines: a comparative review with the tetracyclines. Drugs. 2004; 64: 63-88.
- Zinn CS, Westh H, Rosdahl VT y cols. An international multicenter study of antimicrobial resistance and typing of hospital *Staphylococcus aureus* isolates from 21 laboratories in 19 countries or states. Microb Drug Resist. 2004; 10: 160-168.