



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

**TÍTULO: Evolución de la resistencia
a antibióticos en *Staphylococcus aureus*.**

Autor: Carmen de Cáceres Velasco

D.N.I.: 70065686-G

Tutor: Rafael Rotger Anglada

Convocatoria: Junio 2016

ÍNDICE

Resumen	3
1. Introducción y antecedentes.....	3
1.1 Características microbiológicas	3
1.2 Epidemiología.....	3
1.3 Principales grupos de antibióticos con actividad frente a <i>S.aureus</i>	4
1.4 Resistencia a antibióticos en <i>S.aureus</i> : generalidades	6
2. Objetivo.....	7
3. Metodología.....	7
4. Resultados y discusión	8
4.1 Resistencia a betalactámicos	8
4.2 La expansión hacia el medio comunitario	12
4.3 Resistencia a glucopéptidos: vancomicina	13
4.4 Otras resistencias: aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos, lincosamidas y estreptograminas	16
4.5 Nuevas opciones terapéuticas: Daptomicina y Linezolid.....	17
5. Conclusiones	19
6. Bibliografía	19

RESUMEN

Staphylococcus aureus es un patógeno oportunista responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de piel y tejidos blandos hasta neumonía. La gran capacidad adaptativa que presenta dio lugar en 1961 a la aparición de cepas meticilín resistentes (SARM). Aunque tradicionalmente estaba limitado al ámbito hospitalario, desde la década de los 90 las cepas comunitarias han ido aumentando rápidamente hasta la actualidad. Esta multiresistencia propició la introducción de nuevos antibióticos en la terapéutica, pero a su vez desencadenó la aparición de cepas con sensibilidad disminuida (VISA) y resistentes (VRSA) a la vancomicina. Recientemente han surgido alternativas, como el linzolid y daptomicina, eficaces en infecciones graves por bacterias multiresistentes. Sin embargo, una vez más, *S.aureus* está demostrando su gran potencial evolutivo y ya se han notificado los primeros casos de resistencia.

1. INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES.

Desde su descubrimiento por el médico Alexander Ogston en 1880, *Staphylococcus aureus* es considerado uno de los patógenos más relevantes hoy en día por su virulencia, su habilidad para causar distintos tipos de infecciones y su capacidad para adaptarse a diferentes condiciones ambientales ^(1, 2).

1.1 Características microbiológicas.

Staphylococcus aureus pertenece al género *Staphylococcus* de la familia *Micrococcaceae*. Las especies se caracterizan por ser cocos gram-positivos, inmóviles, anaerobios facultativos, no forman esporas y generalmente no están capsulados. Pueden encontrarse solos o agrupados en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos. *S.aureus* crece en medios de cultivo no selectivos como el agar sangre, agar chocolate, agar cerebro corazón (BHI) y medios con grandes cantidades de NaCl (7,5%). La mayoría de las cepas producen β -hemólisis alrededor de las colonias cuando se cultivan en agar sangre. Se diferencia de otros cocos gram-positivos por producir coagulasa y catalasa, ser resistente al calor y a la desecación y fermentar manitol. Las colonias formadas presentan una pigmentación amarilla dorada debido a la producción de carotenoides durante su crecimiento en agar sal manitol ^(1,3).

1.2 Epidemiología

S.aureus es un patógeno oportunista que forma parte de la microbiota humana, pudiendo ser entre el 20% y 50% de la población mundial portadora del mismo en las fosas nasales, y el

30% de forma permanente en piel y tracto gastrointestinal⁽¹⁾. Cuando las barreras mecánicas se rompen, esta bacteria puede alcanzar los tejidos más profundos y producir la enfermedad. Determinadas características del hospedador pueden favorecer la invasión y predisponer al individuo a la infección, entre ellos se incluye la pérdida de la barrera natural de la piel (heridas, traumatismos, intervenciones quirúrgicas...) o la presencia de enfermedades subyacentes como diabetes, SIDA o defectos en la función de los neutrófilos⁽⁴⁾. Los pacientes con infecciones por *S.aureus* suelen infectarse de la misma cepa que coloniza sus fosas nasales, la colonización también permite la transmisión entre individuos tanto del hospital como en la comunidad⁽¹⁾.

Estos microorganismos constituyen una de las principales causas de las infecciones nosocomiales y cada vez más, también del medio comunitario. Son responsables de infecciones de la piel y partes blandas, bacteriemia, endocarditis y neumonía, pero además producen un creciente número de infecciones relacionadas con la utilización de catéteres, prótesis articulares y vasculares y otros dispositivos⁽⁵⁾.

1.3 Principales grupos de antibióticos con actividad frente a *S.aureus*

Los antibióticos presentan un mecanismo de acción dirigido a estructuras y procesos que son únicos e importantes para las bacterias, tales como la pared celular, ADN, ARN, maquinaria de síntesis de proteínas e incluso metabolismo intermedio⁽⁶⁾. A su vez, los antibióticos pueden ejercer su acción de forma bacteriostática (inhibiendo temporalmente el crecimiento de la bacteria) o bactericida (destruyendo la viabilidad celular).

De acuerdo con la actividad intrínseca, la experiencia clínica publicada y la disponibilidad en España, los betalactámicos constituyen el primer grupo terapéutico en la lucha de las infecciones contra *S.aureus*. Los betalactámicos que tienen mayor actividad intrínseca frente a las cepas sensibles a meticilina son: las penicilinas resistentes a penicilinasas (principalmente penicilinas isoxazólicas como la cloxacilina y oxacilina), asociaciones de una penicilina y un inhibidor de betalactamasas, las cefalosporinas (especialmente las de primera generación como cefazolina) y los carbapenems. Las penicilinas isoxazólicas han demostrado ser hasta 8 veces más activas que la meticilina, por lo que son consideradas como el tratamiento de elección en infecciones de gravedad moderada o alta⁽⁷⁾.

La vancomicina constituye uno de los posibles tratamientos contra la infección por *S.aureus* resistente a la meticilina o en cepas sensibles a meticilina en pacientes alérgicos a los betalactámicos. Este antibiótico presenta una actividad bactericida tiempo dependiente, más lenta que la observada con los betalactámicos. El inconveniente que presenta es que no sólo

posee la capacidad de inducir la expresión y liberación de exotoxinas en cepas toxigénicas (característica que comparte con los betalactámicos), sino también la pérdida de eficacia en condiciones de anaerobiosis, lo que la hace poco o nada activa frente a poblaciones bacterianas intracelulares o en el seno de biopelículas ⁽⁷⁾.

En infecciones estafilocócicas graves, es aconsejable determinar la CMI de la vancomicina. El uso de vancomicina con un CMI ≥ 1 mg/L está contraindicado ya que supondría un aumento de dosis que conlleva un riesgo de toxicidad renal significativo⁽⁷⁾. En tal caso, habría que considerar la asociación potencialmente sinérgica de cloxacilina con daptomicina, fosfomicina y/o un aminoglucósido valorando siempre la sensibilidad de la cepa, la localización de la infección y el riesgo de toxicidad renal⁽⁷⁾. Por otro lado, para evitar la liberación de exotoxinas en cepas toxigénicas producida por betalactámicos o vancomicina, se recurre al linezolid cuyo mecanismo de acción consiste en inhibir la síntesis de proteínas y por tanto, la de toxinas.

Cuando la terapia con vancomicina puede resultar ineficaz (CMI ≥ 1 mg/L) en endocarditis, bacteriemia primaria o asociada a un catéter por cepas resistentes a la meticilina se recurre a la daptomicina. La daptomicina es un lipopéptido activo frente a todas las cepas de *S.aureus* con actividad bactericida dependiente de la concentración^(7,8). La bacteriemia persistente (más de 5-7 días) por cepas resistentes a la meticilina puede tratarse con daptomicina asociada a un segundo antibiótico (cloxacilina, linezolid o fosfomicina) con o sin rifampicina, ya que presentan un efecto sinérgico y favorece su actividad frente a *S.aureus* en el seno de biopelículas^(7,9).

Por otro lado, linezolid presenta actividad bacteriostática en cepas tanto sensibles como resistentes a la meticilina. La ventaja que presenta este antibiótico es que en España el 99,8% de los aislados resistentes a la meticilina son sensibles al linezolid, por lo que se posiciona como un antibiótico de elección sobre todo en el tratamiento de la neumonía, meningitis y endoftalmitis^(7,9). A diferencia de la daptomicina no presenta actividad frente a poblaciones en el seno de biopelículas ni microorganismos intracelulares y el sinergismo que presenta con la rifampicina es moderado⁽⁷⁾.

Además de los citados, también se emplean en la terapéutica otros grupos con actividad frente a *S.aureus* como los aminoglucósidos (gentamicina) o las fluoroquinolonas (moxifloxacino, levofloxacino), aunque se desaconseja su uso en monoterapia⁽⁷⁾. Como alternativa se recomienda pristinamicina, clindamicina, doxiciclina, tigeciclina o ácido fusídico^(9,10). En infecciones urinarias se utiliza también como primera línea el cotrimoxazol

(también como alternativa en neumonía, bacteriemia o endocarditis⁽¹⁰⁾), mientras que para infecciones de la piel leve-moderadas se recurre a mupirocina⁽⁷⁾.

1.4 Resistencia a antibióticos en *S.aureus*: generalidades.

La introducción de la penicilina y posteriormente nuevas moléculas de antibióticos en la terapéutica creó la ilusión de poder controlar las infecciones. Sin embargo, con el tiempo se comprobó que las bacterias dificultarían el proceso. A pesar de que existen mecanismos de resistencia intrínsecos o naturales (como la ausencia de diana para la acción del antibiótico), la resistencia adquirida es la principal responsable de la pérdida de eficacia de nuestro arsenal terapéutico. Ésta se produce mediante transferencia vertical, por la aparición de mutaciones que se transfieren de una generación a otra; mediante transferencia horizontal por plásmidos y elementos móviles genéticos (integrones y transposones), o por transducción a través de bacteriófagos. De esta forma, la resistencia se podría transmitir a otra especie y género⁽¹¹⁾.

Actualmente la resistencia a antimicrobianos en la mayoría de los patógenos bacterianos y en especial en *S.aureus*, se ha convertido en un problema clínico, epidemiológico y de salud pública reconocido en todo el mundo⁽⁵⁾. En un mundo globalizado como el actual, tanto el movimiento de personas como de alimentos facilita la diseminación de resistencias. Desafortunadamente esto ha dado lugar a una disminución en la eficacia, lo que a su vez puede generar procesos patológicos más graves y largos; un menor número de antibióticos disponibles para el tratamiento, efectos secundarios más frecuentes (debidos al uso de antibióticos con un rango terapéutico menor, de dosis más altas o tratamientos más largos) e ingresos hospitalarios más prolongados^(12,13).

Dada la importancia y la globalización del problema, la Unión Europea vigila desde 1998 la resistencia a antibióticos a través de la *European Antimicrobial Resistance Surveillance System* (EARSS). La red (actualmente llamada EARS-Net) está coordinada y financiada desde el 2010 por el *European Centre for Disease prevention and Control* (ECDC) y acoge datos acerca de la aparición y propagación de resistencias bacterianas de los 28 Estados Miembros (además de Islandia y Noruega), a través de laboratorios o centros nacionales de vigilancia⁽¹³⁾. Por otro lado, existen grupos de estudio como el *European Study Group on Antibiotic Resistance Surveillance* (ESGARS), que recopila información sobre el consumo de antibióticos y la resistencia a los mismos. Los objetivos son: construir las bases para comprender la aparición y epidemiología de las resistencias y evaluar las estrategias para la prevención y control de las mismas a nivel hospitalario⁽¹¹⁾.

En España existe la Red Española para la Vigilancia y el Estudio de la Resistencia a Antibióticos (REVERA), centralizada y coordinada por el Centro Nacional de Microbiología del Instituto de Salud Carlos III. Los datos obtenidos son enviados cada cuatro meses a la central europea para la elaboración de los informes anuales ⁽¹¹⁾.

En *S.aureus* la evolución de la resistencia se ha producido de forma continuada, desde la detección de los primeros aislados con resistencia a la penicilina en 1942 hasta las cepas con resistencia a la vancomicina y las más recientes descripciones de aislados resistentes a nuevos antimicrobianos como linezolid o daptomicina^(2,13).

2. OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión bibliográfica para analizar el desarrollo de las resistencias a antibióticos en *Staphylococcus aureus*. Se revisará la evolución histórica de las cepas resistentes, su propagación, los mecanismos moleculares de resistencia a los antibióticos seleccionados y el desarrollo de objetivos y nuevos enfoques para la intervención terapéutica.

3. METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión bibliográfica para reunir información relevante acerca de la evolución y aparición de las resistencias en *S.aureus*. Para ello se han consultado bases de datos como MEDLINE a través del buscador PubMed con las palabras clave “*Staphylococcus aureus*”, “resistance” y “antibiotics”. Por otro lado, también se seleccionaron artículos de la plataforma BUCea de la Universidad Complutense de Madrid. Para una mayor comprensión y valoración de la evolución de las resistencias, se seleccionaron aquellos artículos de especial relevancia desde 1940 hasta 2015 excluyendo los casos índice y los referentes a métodos de diagnóstico.

Con la intención de enfocar el trabajo a la Comunidad Europea y, especialmente, a España, se seleccionaron los informes y artículos referentes a estas zonas geográficas. De este modo, se consultaron webs como la *Sociedad Española de Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica* (SEIMC), *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) y *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID). Se han tenido en cuenta igualmente los informes, tablas y mapas elaborados por el EARS-Net desde el año 2000 al 2014. Finalmente, para recoger información sobre recomendaciones de

antibióticos en la terapéutica actual se consultaron guías de la *Sociedad Española de Quimioterapia* y páginas web como *European Medicines Agency (EMA)*, *Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS)*, la *Organización Mundial de la Salud (OMS)* y de nuevo, SEIMC.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resistencia a Betalactámicos.

La introducción de la penicilina en 1940 supuso una mejora significativa en el pronóstico de las infecciones causadas por *S.aureus*⁽²⁾. Sin embargo, ya Fleming en sus experimentos observó que en ciertas colonias de bacterias el crecimiento no quedaba inhibido por la penicilina⁽¹⁵⁾. Ese mismo año E. Chain y E. P. Abraham confirmaron este hecho mediante experimentos con *E.coli*, donde comprobaron que una enzima, a la que llamaron penicilinasas, era capaz de inactivar al antibiótico⁽¹⁶⁾. Posteriormente, en 1942 Rammelkamp identificó cepas de *S.aureus* resistentes a la penicilina⁽¹⁷⁾; pero no fue hasta 1944 cuando Kirby demostró que la resistencia en *S.aureus* también se debía a la inactivación de la penicilina por acción de una enzima bacteriana^(2,16). Un año después, Bondi y Dietz demostraron el papel que jugaba esta penicilinasas en la resistencia contra la penicilina⁽²⁾.

Así pues, en los años 60 más del 80% de los aislados de *S.aureus* tanto de origen comunitario como hospitalario eran resistentes a la penicilina⁽²⁾. Estas infecciones estaban frecuentemente asociadas a cepas de *S.aureus* conocidas como *fago tipo 80/81*. La pandemia de *S.aureus fago tipo 80/81* desapareció con la introducción de la meticilina a la terapéutica, pero la prevalencia de cepas productoras de penicilinasas sigue siendo actualmente muy elevada⁽⁴⁾. Se estima que el 90-95% de las cepas actuales de *S.aureus* son productoras de estas enzimas^(12,16).

Estas penicilinasas son enzimas extracelulares cuya síntesis tiene lugar cuando *S.aureus* está expuesto a betalactámicos⁽²⁾, de tal forma que hidrolizan el anillo betalactámico inactivando al antibiótico. Se encuentran codificadas por el gen *blaZ*, localizado en un plásmido y transferible por transducción o conjugación⁽¹⁶⁾. A su vez, *blaZ* se encuentra regulado por dos genes reguladores, el represor *blaI* y el antirepresor *blaRI*⁽²⁾.

Con la rápida diseminación de la resistencia a la penicilina, en 1959 se introdujeron las penicilinas semisintéticas del tipo de la meticilina y oxacilina, convirtiéndose en la principal arma terapéutica frente a las infecciones producidas por este microorganismo⁽¹⁶⁾. Sin embargo

dos años después, en 1961, se detectó el primer aislado de *S.aureus* resistente a la meticilina (SARM) en un hospital del Reino Unido^(16,18). En este caso, a diferencia de la penicilina, la resistencia a la meticilina era de amplio espectro, lo que confería resistencia a los betalactámicos, incluyendo penicilinas, cefalosporinas y cabapenems⁽⁴⁾.

A pesar de identificar los primeros aislados resistentes a la meticilina, tuvieron que pasar 20 años para poder entender el mecanismo de resistencia. Así, en 1981, se identificó una PBP (Penicillin Binding Protein) con afinidad reducida a la que se denominó PBP2a⁽¹⁷⁾. Las PBPs son enzimas que catalizan la reacción de transpeptidación necesaria para el entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglicano. En SARM estas PBPs son sustituidas por PBP2a, lo que reduce su afinidad por los betalactámicos y le permite sobrevivir a pesar de estar expuesto a altas concentraciones de estos agentes⁽²⁾. Estudios recientes han determinado la estructura de un derivado soluble de PBP2a y han podido observar que estas enzimas bloquean la unión de los betalactámicos a su centro activo pero permiten que tenga lugar la reacción de transpeptidación⁽²⁾.

El gen responsable de la síntesis de las PBP2a se conoce como *mecA*⁽²⁾. Este gen forma parte de un complejo genético móvil integrado también por dos genes reguladores, *mecI* y *mecR*, y reside en una isla genómica denominada SCC*mec* (del inglés Staphylococcal Cassette Chromosome mec) que constituye el 1-2% de los 2,9 millones de pares de bases del cromosoma de *S.aureus*^(1,17). Junto a ellos también se encuentra el complejo de genes *ccr* (cassette chromosome recombinases) que codifican una recombinasa capaz de insertar o escindir elementos del SCC*mec*; y unas secuencias de inserción (*IS431* o *IS1272*)^(18,19).

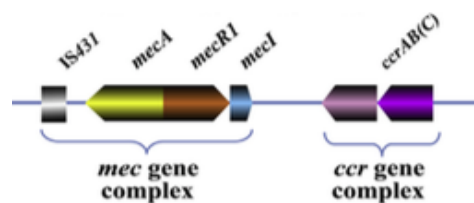


Fig.1: esquema básico de la estructura de SCC*mec*⁽¹⁸⁾

Algunos SCC*mec* contienen elementos genéticos adicionales como *Tn554* (que confiere resistencia a macrólidos, clindamicina y estreptogramina B) o *pT181* (que confiere resistencia a tetraciclinas)⁽¹⁷⁾. Hasta el momento se conocen 11 tipos de SCC*mec*. De ellos, los SCC*mec*

tipo I (34.3 kb), IV (20.9-24.3 kb), V (28 kb), VI (20.9 kb) y VII (35.9 kb) sólo presentan resistencia a betalactámicos, mientras que los tipos II (53 kb), III (66.9 kb) y VIII(32kb) son resistentes a más clases de antibióticos debido a los genes de resistencia integrados en plásmidos o transposones. Los tipos IX y X presentan resistencia a metales, pero solo han sido encontrados en ganado y humanos en contacto con éstos^(4,19).

El último tipo fue descubierto en 2009, cuando un grupo de investigadores de Reino Unido y Dinamarca aislaron una cepa de *S.aureus* que presentaba un gen homólogo al *mecA*. Este gen, denominado *mecA*_{LGA251}, difería del *mecA* clásico en las recombinasas y los genes reguladores, siendo imposible su reconocimiento con las pruebas de aglutinación o de amplificación de ácidos nucleicos empleadas habitualmente^(7,21). Posteriormente se designó como SCC*mec* de tipo XI y su gen cambió de denominación a *mecC*⁽²¹⁾.

La expresión de PBP2a está inducida por la unión del betalactámico a un receptor de la membrana citoplásmica, que actúa como sensor y transductor de señales, codificado por el gen *mecRI*. Esto desencadena la cascada catalítica que libera al represor *mecI* de la zona operador del gen *mecA* permitiendo la transcripción del gen y la consecuente síntesis de la enzima^(17,19).

El gen *mecA* y sus elementos reguladores constituyen el denominado complejo *mec*. La evolución ha originado cepas que expresan la PBP2a constitutivamente (complejo *mec* de clases B y C) y cepas que lo expresan sólo bajo inducción por un betalactámico (complejo *mec* de clase A)⁽⁷⁾. Por otro lado, no todos los clones que poseen el gen *mecA* son resistentes a la meticilina. El grado de resistencia dependerá de la eficiencia en la producción de PBP2a, que a su vez se encuentra regulado por factores cromosómicos⁽⁷⁾.

La aparición y expansión de SARM en los hospitales en 1961 se identificó como la segunda ola de resistencias desarrolladas por *S.aureus*. La estirpe, conocida como *clon Ibérico* y asociada con el SCC*mec* tipo I⁽¹⁶⁾, permaneció en los hospitales europeos (principalmente Reino Unido, Dinamarca, Francia y Suiza) hasta los años 70^(4,20). A finales de esa década se observó una disminución de los aislamientos en Europa. Las razones se desconocen, pero se piensa que pudo ser debido a una mejora en la práctica médica en relación con el control de infecciones y el uso de antibióticos⁽²⁰⁾.

La tercera ola de resistencia surgió a finales de la década de 1970 y principios de 1980 en los hospitales de Europa, Australia y Estados Unidos⁽²⁰⁾. Desde 1970 se recibieron casos esporádicos de distintos países, pero una epidemia en un hospital londinense hizo saltar de nuevo las alarmas en 1981. En este caso, la cepa responsable fue nombrada EMRSA 1

(posteriormente se identificaron hasta 16 tipos distintos), por su similitud a la cepa epidémica de Australia⁽²⁰⁾. Un año después se aisló una cepa (N315) en Japón que albergaba el SCCmec tipo II⁽¹⁹⁾ y tres años después, en 1985, una cepa que contenía SCCmec tipo II fue encontrada en Nueva Zelanda⁽¹⁹⁾. A partir de 1990, la mayoría de los aislados encontrados presentaban el SCCmec tipo IV⁽¹⁹⁾. Este nuevo cambio dio lugar a una ampliación de los linajes desencadenando la pandemia mundial de SARM en los hospitales que continúa hasta la actualidad⁽⁴⁾.

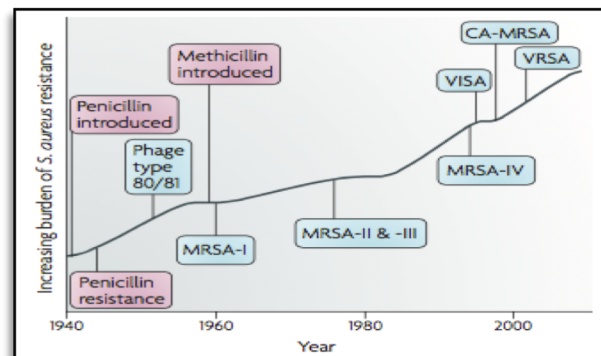


Fig.2: Olas de resistencia en *S.aureus* ⁽⁴⁾.

El programa SENTRY de vigilancia antimicrobiana investigó esta tendencia creciente desde 1997 hasta 1999. Para entonces, observaron que la prevalencia ya era del 23% en Australia, 67% en Japón, 40% en América del Sur, 32% en EEUU y 26% en Europa. Sin embargo, la prevalencia de las resistencias en Europa no tenía una distribución homogénea: los países nórdicos mostraban un 1%, mientras que los países del sur alcanzaban el 45%⁽¹⁹⁾. Esta diferencia de distribución se mantiene actualmente. Así, según el último informe de vigilancia antimicrobiana elaborado por el EARS-Net los porcentajes de resistencia más bajos se encuentran en el norte de Europa (2.6% en Finlandia, 1% en Suecia, 1% en Noruega, 0.9% en Holanda), mientras que los más altos se corresponden con países del sur y sureste de Europa (56% en Rumanía, 37.1% en Grecia, 28% en Eslovaquia, 22.1% en España)⁽¹⁴⁾.

Afortunadamente, el año 2006 marcó un punto de inflexión en la tendencia creciente de resistencias que se observaba desde 1986⁽⁵⁾. Desde entonces el porcentaje de aislados resistentes a la meticilina ha ido disminuyendo alcanzando una media, según el último informe del EARS-Net, del 17,4% (22,1% en España)⁽¹⁴⁾. A pesar de los datos esperanzadores, el ECDC insiste que hoy en día 7 de los 29 países que conforman la Unión Europea muestran porcentajes por encima del 25% (Figura 3), reincidiendo en la importancia del problema⁽¹⁴⁾.

Además de plásmidos, estos nuevos clones pueden haber adquirido por transmisión horizontal profagos, islas de patogenicidad y transposones, los cuales no sólo conceden resistencia a antibióticos, sino también la expresión de factores de virulencia⁽⁴⁾. De este modo, el profago Φ SA2 contiene los genes *lukS-PV* y *lukF-PV* que codifican la producción de la leucocidina de Pantón-Valentine (LPV), una citotoxina que destruye la integridad de los leucocitos polimorfonucleares y produce necrosis tisular^(4,22). La presencia de LPV en SARM-CO no parece ser necesaria para la colonización ni para la diseminación. Sin embargo, hay una gran correlación entre la presencia de los genes LPV y los aislados SARM-CO productores de la enfermedad⁽²²⁾. Por otro lado, destaca también la isla de patogenicidad ACME (*arginine catabolic mobile element*), la cual contribuye a la patogenicidad aumentando el crecimiento y la supervivencia del clon^(19,22).

El origen de SCC*mec* en los SARM-CO sigue siendo desconocido. Una de las hipótesis que se plantea explica que el gen *mecA* o el SCC*mec* se habría transferido horizontalmente a una o más cepas de *S.aureus* sensible a la meticilina que ocupaban nichos tradicionalmente comunitarios⁽²²⁾. Esta posibilidad explicaría las diferencias genotípicas y fenotípicas del SARM-CO.

Desde su descubrimiento, los SARM-CO se han extendido y propagado con gran rapidez. Además de los Estados Unidos, se han notificado casos en Canadá, América del Sur y Australia, así como en toda Europa, incluso en países con baja prevalencia de SARM como Noruega, los Países Bajos, Finlandia y Dinamarca⁽⁴⁾. Actualmente, la mayor incidencia de SARM-CO sigue estando en Estados Unidos, donde los clones más frecuentes son el USA400 y USA300 con secuencias ST1 y ST8 de MLST (*multilocus sequence typing*)⁽²²⁾. En España, el clon más frecuente pertenece al ST8 y está relacionado con el clon USA300. Con menor frecuencia también se han detectado otros como el ST80 y ST5 (pediátrico)⁽²²⁾.

4.3 Resistencia a glucopéptidos: vancomicina.

La multiresistencia que presentaban los SARM limitó en el tiempo las opciones terapéuticas para el tratamiento de las infecciones y obligó a incrementar el consumo de glucopéptidos, lo que trajo como consecuencia la aparición de cepas con sensibilidad disminuida a la vancomicina. En 1997 se describe en Japón el primer aislado (Mu50) de *S.aureus* con sensibilidad disminuida a la vancomicina (vancomycin-intermediate *S.aureus*; VISA), así como la existencia de cepas (Mu3) con resistencia heterogénea a este antimicrobiano⁽¹³⁾. Estas últimas (conocidas como hVISA) se caracterizan por presentar una

baja CMI (1-4mg/L) pero, en presencia de vancomicina, son capaces de desarrollar subpoblaciones bacterianas con mayor resistencia al antibiótico, lo que podría conducir a un fallo terapéutico⁽⁶⁾.

Clasificación	<i>S.aureus</i> CMI (mg/L)		Observaciones
	EUCAST	CLSI	
Sensible (VSSA)	≤ 2	≤ 2	Por posibilidad de hVISA son necesarios test adicionales EUCAST no define categoría intermedia
Intermedio (VISA)		4-8	
Resistente (VRSA)	≥4	≥16	

Tabla1. Resumen de las resistencias a vancomicina según EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) y CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). Adaptado de ref 24.

Una serie de mutaciones a lo largo del tiempo en *S.aureus* sensible a la vancomicina dieron lugar a la aparición de hVISA y finalmente, de VISA. Los cambios más notables afectaban a genes reguladores de rutas metabólicas, lo que provocó un cambio en el flujo de nutrientes y metabolitos para la producción del peptidoglicano de la pared celular y una reducción de la autólisis⁽¹⁸⁾. Esto origina un aumento de la síntesis de peptidoglicano que trae como resultado un engrosamiento de la pared celular y la adquisición de una forma irregular⁽²⁾. A su vez, la reducción de la autólisis contribuye al mantenimiento de las capas gruesas de peptidoglicano al disminuir la tasa de recambio de la pared celular⁽¹⁸⁾. Por otro lado, hay una disminución en el entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglicano (puentes de pentaglicina) que da lugar a una mayor exposición de residuos D-Alanina-D-Alanina capaces de unirse y atrapar moléculas de vancomicina⁽²⁾. Una vez unidas, las moléculas de vancomicina quedan atrapadas en esta malla que actúa como obstáculo impidiendo su difusión hacia la membrana citoplásmica, donde se encuentra su diana⁽¹⁸⁾.

El número de loci y mutaciones ligadas a la resistencia es muy elevado, sin embargo, la mayoría de los autores coinciden que los genes principalmente involucrados en el fenotipo VISA son: *walkR*, *vraRS*, *graRS* así como el gen que codifica a la subunidad B de la ARN polimerasa (*rpoB*). *vraRS* es un sensor de histidina kinasa que forma parte del sistema regulador de dos componentes (TCRS) y aumenta la expresión de genes necesarios para la síntesis de la pared celular ante la exposición a antibióticos. Por otro lado, *graRS* es otro regulador de otro TCRS, implicado en resistencias a antibióticos catiónicos proteicos. Sin embargo, de todos ellos, las mutaciones en *walkR* son esenciales, ya que regula la síntesis de la pared celular y la autólisis. Estudios recientes han demostrado cómo la introducción de una mutación en *walkR*

en una muestra de *S.aureus* sensible a la vancomicina eleva su resistencia pasando de una CMI de 1mg/L a 3mg/L⁽²³⁾.

Las cepas VISA presentan también sensibilidad disminuida o resistencia a la teicoplanina, por lo que hoy en día se suele utilizar el término de GISA (del inglés glycopeptide intermediate *S.aureus*). Estas cepas se aíslan con una frecuencia muy baja y generalmente después de un tratamiento prolongado con glucopéptidos. El mecanismo de resistencia de estas cepas se debe también al engrosamiento de la pared celular, pero al mismo tiempo se ha observado un aumento de la expresión de PBP2 y/o PBP2a⁽²⁴⁾.

Además de las cepas VISA, en 2002 en Estados Unidos, se notificaron cepas completamente resistentes a la vancomicina (vancomycin-resistant *S.aureus*; VRSA)^(25,26). Según estudios, estas nuevas cepas habrían adquirido la resistencia gracias a la transferencia del gen *van*, por el transposón *Tn1546*, de *Enterococcus faecalis*⁽²⁶⁾. Este transposón contiene el complejo de genes *vanA*, que incluye: *vanA*, *vanH*, *vanX* y *vanY*⁽¹⁸⁾. Cuando estos cuatro genes funcionan juntos, todos los residuos de D-Alanina-D-Alanina del sustrato para la síntesis del peptidoglicano son reemplazados por D-Alanina-D-Lactato, al cual la vancomicina presenta 1000 veces menos afinidad^(7,18). Este mecanismo se ha observado en casos aislados en los años 90, pero no se ha diseminado, probablemente debido a una pérdida de aptitud o eficacia biológica (*fitness*) de las cepas que lo poseen^(2,7).

Actualmente, la prevalencia de estas cepas VRSA no es elevada. Se han reportado casos esporádicos en Estados Unidos, India e Irán⁽⁹⁾. En España, la infección causada por este tipo de cepas sólo se ha descrito de forma ocasional⁽²⁵⁾. No obstante, las guías terapéuticas frente a *S.aureus* recomiendan que en caso de existir una CMI ≥ 1 mg/L es necesario descartar la existencia de resistencia heterogénea y resistente para prevenir una posible bacteriemia persistente y/o fallo terapéutico⁽⁷⁾.

Recientemente, un estudio llevado a cabo por *K.Hiramatsu et al.* ha podido identificar un estado intermedio en el paso de hVISA a VISA. Este nuevo estado, denominado sVISA (slow VISA, debido a su lento crecimiento), puede retornar a hVISA rápidamente cuando se elimina la vancomicina del medio⁽¹⁸⁾. Del mismo modo, otros estudios han podido describir la reversión de VISA hacia niveles más bajos de resistencia. Sin embargo, esta reversión no siempre implica una vuelta al estado sensible a la vancomicina⁽²⁶⁾. Por el momento, no se conocen en profundidad los determinantes genéticos responsables⁽²⁶⁾.

4.4 Otras resistencias: aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos, lincosamidas, estreptograminas.

Aminoglucósidos. Son antibióticos de amplio espectro capaces de unirse a la subunidad 30S del ribosoma alterando la lectura del ARNm. La resistencia más común a este grupo se debe a una modificación enzimática por O-fosforilación, N-acetilación u O-nucleotidilación catalizada por fosfotransferasas, acetiltransferasas o nucleotidiltransferasas⁽⁶⁾. Los genes que codifican a estas enzimas se encuentran en transposones y elementos móviles, lo que explicaría la rápida diseminación entre las bacterias gram positivas⁽⁶⁾. El gen que codifica a la transferasa más comúnmente encontrada en cepas de SARM se conoce como *aac(6')-aph(2'')*, y se le atribuye la resistencia a la gentamicina y a gran parte de los aminoglucósidos^(6,24). Otra resistencia frecuentemente aislada en hospitales españoles es mediada por la enzima ANT(4')⁽²⁴⁾. Se trata de cepas sensibles a la gentamicina y resistentes a la amikacina, tobramicina y kanamicina⁽²⁴⁾.

Fluoroquinolonas. Fueron inicialmente introducidas en el tratamiento de las bacterias gram negativas en 1980⁽²⁾. Sin embargo, debido a su actividad frente a bacterias gram positivas se comenzaron a utilizar en el tratamiento de las infecciones causadas por *Streptococcus pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*⁽²⁾. Poco tiempo después, la resistencia apareció en las cepas meticilín resistentes de origen hospitalario⁽¹⁷⁾. La resistencia surgió como resultado de mutaciones cromosómicas espontáneas en la diana del antibiótico, es decir, en la topoisomerasa IV o en la ADN girasa^(2,6). La subunidad ParC de la topoisomerasa IV y la subunidad GyrA de la ADN girasa han sido descritos como los lugares que más mutaciones presentan en este tipo de resistencias⁽²⁾. El segundo mecanismo de resistencia encontrado implica la expresión de bombas de eflujo de la familia Nor. Se ha visto que la sobreexpresión de bombas de eflujo del tipo *norA* no sólo desencadena la aparición de resistencias en norfloxacino, sino también en betalactámicos, tetraciclinas y cloranfenicol⁽⁶⁾.

Debido a estas multirresistencias no se recomienda el empleo de una quinolona en monoterapia para el tratamiento de la infección estafilocócica, especialmente cuando la carga bacteriana es elevada o se trata de una cepa de SARM ya que, en ambas situaciones, la posibilidad de selección de mutantes resistentes es elevada⁽⁷⁾. Según el informe del EARS-Net correspondiente al año 2013⁽²⁷⁾, 28 países europeos notificaron cepas de *S.aureus* resistentes a fluoroquinolonas, y de ellas, 84.1% eran SARM y 5.7% eran sensibles a la meticilina.

Macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B (MLS_B). A pesar de ser estructuralmente diferentes, todos ellos inhiben la síntesis proteica al unirse a la subunidad 50S

del ribosoma. La resistencia a este grupo de antibióticos se debe a la metilación o dimetilación del ARNr por metiltransferasas. Estas metiltransferasas están codificadas por el gen *erm* (y en raras ocasiones por el gen *cfr*) y utilizan la S-adenosil metionina para modificar una adenosina del dominio V del ARNr de 23S, lo que confiere resistencia cruzada a macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B⁽⁶⁾. A su vez, este fenotipo puede presentar una resistencia constitutiva o inducible por antibióticos como la eritromicina⁽²⁴⁾.

Otros mecanismos de resistencia se basan en la expulsión activa del antibiótico, relacionado con diferentes genes (*mef*, *msr* y *erp*) o su inactivación (*lnu*, *vat*, *vgb* y *mph*)⁽²⁴⁾. La mayoría de estos genes se transmite por plásmidos o transposones⁽⁷⁾. Por otro lado, en pacientes con fibrosis quística, se ha visto que el principal mecanismo de resistencia a macrólidos se debe a mutaciones en una adenina de una proteína ribosomal que contribuye a la unión con el antibiótico⁽⁶⁾.

4.5 Nuevas opciones terapéuticas : Daptomicina y Linezolid.

Dada la limitada efectividad de la vancomicina en tratamientos prolongados, el aumento progresivo de la CMI, la posible nefrotoxicidad y la aparición de cepas con sensibilidad disminuida o resistentes, se hizo necesaria la búsqueda de nuevos tratamientos⁽⁴⁾. Así, entre 2003 y 2007 se comercializaron en España 3 antibióticos -linezolid, tigeciclina y daptomicina- activos frente a SARM, incluyendo aquellos con sensibilidad reducida a glucopéptidos⁽⁸⁾.

Linezolid es una oxazolidinona de bajo peso molecular capaz de unirse reversiblemente a la subunidad 23S del ribosoma e inhibir la síntesis de proteínas⁽³⁾. Cuando se administra por vía oral o intravenosa alcanza una biodisponibilidad cercana al 100% y un volumen de distribución alto⁽⁸⁾. Está indicado en neumonía nosocomial y adquirida, donde presenta una elevada difusión pulmonar y una excelente actividad *in vitro*⁽⁷⁾. Estudios clínicos han demostrado mayores tasas de curación clínica, erradicación microbiológica y supervivencia que vancomicina en neumonía nosocomial, especialmente en grupos asociados a ventilación mecánica⁽⁸⁾. Esto lo convierte en una alternativa en neumonía por SARM, más aún si el paciente presenta insuficiencia renal o si la CMI de la vancomicina es >1mg/L⁽⁸⁾. En infecciones complicadas de la piel y tejidos blandos también ha demostrado ser más eficaz que la vancomicina, manteniendo una menor estancia media, mayor erradicación microbiológica y menor número de complicaciones⁽⁸⁾.

En España, el 99.8% de los aislados de SARM son sensibles al linezolid⁽⁷⁾. Sin embargo, se han descrito algunas resistencias en pacientes tratados con este antimicrobiano durante

períodos largos⁽¹³⁾. En Europa se alcanzan cifras similares, así, según el informe del EARS-Net correspondiente al año 2013, las resistencias a linezolid fue de 1,2% entre cepas de SARM y de un 0,1% entre cepas sensibles a meticilina⁽²⁷⁾. El desarrollo de resistencias puede deberse a mutaciones cromosómicas que modifican el ARNr 23S o alguna de las proteínas ribosómicas; o a la adquisición del gen *cfz* que codifica una metiltransferasa del ARNr 23S⁽⁷⁾.

La tigeciclina es el primero de una nueva familia de antibióticos de amplio espectro, las glicilciclinas, estructuralmente similares a las tetraciclinas. Está indicada para infecciones complicadas de piel y tejidos blandos, aunque también ha sido empleada con éxito en neumonía del paciente crítico, incluidas cepas de SARM y resistentes a linezolid⁽⁸⁾.

La daptomicina es un lipopéptido con actividad bactericida dependiente de concentración, indicado para el tratamiento de infecciones complicadas de piel y partes blandas, endocarditis infecciosa del lado derecho y bacteriemia⁽⁷⁾. Ensayos clínicos han comprobado su inactivación por el líquido surfactante, por lo que no está indicada para el tratamiento de la neumonía^(7,9). Por otro lado, estudios han demostrado que la daptomicina es tan eficaz como la asociación de vancomicina y gentamicina con un porcentaje de éxito de 45 frente a 27% en bacteriemia persistente y 60 frente a 45% en bacteriemia no complicada⁽⁸⁾. Debido a esto, las guías españolas del SEIMC recomiendan la daptomicina como terapia de inicio en pacientes con bacteriemia persistente o relacionada con catéter, cuando la CMI de vancomicina es >1mg/L o en situaciones de riesgo (inmunocomprometidos, pie diabético, insuficiencia renal, etc)⁽⁸⁾.

Son muy poco frecuentes las cepas de *S.aureus* no sensibles a daptomicina, pero se han descrito casos en pacientes tras varias semanas de tratamiento con vancomicina y/o daptomicina, especialmente aquellos con carga bacteriana elevada y catéteres protésicos o intravenosos⁽¹³⁾. La resistencia obedece a la existencia de varias mutaciones sucesivas en diferentes genes (*mprF*, *yycG*, *rpoB* y *rpoC*). Cada mutación genera cierto grado de resistencia y en combinación muestran cambios fenotípicos consistentes en el engrosamiento y alteraciones de la fluidez de la pared bacteriana y aumento de la carga positiva de superficie⁽⁷⁾.

Recientemente, en el año 2011 y 2012 se ha aprobado la comercialización de dos nuevos antibióticos, la telavancina y la ceftarolina. Ambos están indicados en la neumonía adquirida en la comunidad y, en el caso de la ceftarolina, también se permite su uso en infecciones complicadas de la piel y tejidos blandos⁽⁷⁾.

El desarrollo de un nuevo antimicrobiano es, en general, un proceso largo que conlleva unos costes elevados debido a la necesidad de realizar estudios de toxicidad y ensayos clínicos

que evidencien su eficacia. Por este motivo, una tendencia creciente es la reintroducción de antibióticos previamente utilizados contra estas bacterias multirresistentes. Este es el caso de antibióticos como la doxiciclina, fosfomicina, ácido fusídico, clindamicina y cotrimoxazol⁽¹⁰⁾.

CONCLUSIONES.

S.aureus ha demostrado a lo largo del tiempo su gran capacidad en el desarrollo de resistencias a la mayoría de antibióticos disponibles hasta la fecha, lo que a su vez ha provocado un importante impacto en el control de las enfermedades infecciosas. Inicialmente, las cepas resistentes se aislaban en hospitales y eran causantes de un gran número de infecciones nosocomiales, sin embargo, a través de una serie de cambios y modificaciones han conseguido conquistar también el medio comunitario, creando la necesidad de realizar una detección precoz. Este carácter potencialmente virulento y resistente que muestra *S.aureus* ha obligado a buscar nuevas dianas terapéuticas y nuevos antibióticos con los que poder ganar la batalla.

Los cambios producidos en la epidemiología clínica de los SARM durante estos últimos años hacen necesaria la vigilancia continua de resistencias, la educación del profesional sanitario y la aplicación de políticas y directrices basadas en pruebas científicas, medidas restrictivas y consultas con especialistas microbiólogos y farmacéuticos. Estas estrategias combinadas pueden dar lugar a mejores prácticas de prescripción de antibióticos y a la disminución de las resistencias.

BIBLIOGRAFÍA.

- (1) Cervantes-García EG-G, R; Salazar-Schettino, PM. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2014;61(1):28-40.
- (2) Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. The Journal of clinical investigation. 2003;111(9):1265-73.
- (3) Kanafani ZA, Fowler Jr VG. *Staphylococcus aureus* Infections: New Challenges from an Old Pathogen. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2006;24(03):182-93
- (4) Chambers HF, Deleo FR. Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. Nature reviews Microbiology. 2009;7(9):629-41.
- (5) Cuevas Ó, Cercenado E, José Goyanes M, Vindel A, Trincado P, Boquete T, et al. *Staphylococcus* spp. en España: situación actual y evolución de la resistencia a antimicrobianos (1986-2006). Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. 2008;26(05):269-77.
- (6) McCallum N, Berger-Bachi B, Senn MM. Regulation of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. International journal of medical microbiology : IJMM. 2010;300(2-3):118-29.
- (7) Mensa J; Soriano A; Llinares P; et al. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Revista española de quimioterapia : publicación oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia. 2013;26(Suppl.1):1-84.
- (8) Candel González FJ. Daptomicina en el contexto de la resistencia a los antimicrobianos en bacterias

- grampositivas. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2012;30(Supl.1):10-6.
- (9) Gould IM, David MZ, Esposito S, Garau J, Lina G, Mazzei T, et al. New insights into methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pathogenesis, treatment and resistance. *International journal of antimicrobial agents*. 2012;39(2):96-104.
- (10) Cassir N, Rolain JM, Brouqui P. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. *Frontiers in microbiology*. 2014;5:551.
- (11) Llagunes J, Peña JJ. Resistencia a los antibióticos y unidad de cuidados críticos. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación*. 2011;58(09):535-7.
- (12) Lázaro, E; Otero, J. Evolución del consumo y de la resistencia a antibióticos en España. *Inf Ter Sist Nac Salud*. 2006;30(1):10-9. Disponible en: <http://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/evolucionConsumoResistenciaAntibioticos.pdf>
- (13) Cercenado E. Update of antimicrobial resistance in Gram-positive microorganisms. *Medicina Clínica*. 2010;135(Supl.3):10-5.
- (14) European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe. 2014. Disponible en: <http://ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>
- (15) Fleming A. On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzae. *British journal of experimental pathology*. 1929;10(3):226-236.
- (16) Kim J. Understanding the Evolution of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology Newsletter*.31(3):17-23.
- (17) Deresinski S. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an evolutionary, epidemiologic, and therapeutic odyssey. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005;40(4):562-73.
- (18) Hiramatsu K, Katayama Y, Matsuo M, Sasaki T, Morimoto Y, Sekiguchi A, et al. Multi-drug-resistant *Staphylococcus aureus* and future chemotherapy. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy*. 2014;20(10):593-601.
- (19) Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2008;8(6):747-63.
- (20) Ayliffe GA. The progressive intercontinental spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1997;24 Suppl 1:S74-9.
- (21) Paterson GK, Harrison EM, Holmes MA. The emergence of mecC methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends in microbiology*. 2014;22(1):42-7.
- (22) Cercenado E, Ruiz de Gopegui E. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina de origen comunitario. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2008;26(Supl.13):19-24.
- (23) Hiramatsu K, Kayayama Y, Matsuo M, Aiba Y, Saito M, Hishinuma T, et al. Vancomycin-intermediate resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2014;2(4):213-24.
- (24) Torres C, Cercenado E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos gram positivos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2010;28(08):541-53.
- (25) López-Medrano F, Aguado JM. *Staphylococcus aureus* con sensibilidad disminuida a vancomicina. Nuevos problemas para el clínico. *Medicina Clínica*. 2010;135(04):160-1.
- (26) Howden BP, Peleg AY, Stinear TP. The evolution of vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA) and heterogenous-VISA. *Infection, genetics and evolution : journal of molecular epidemiology and evolutionary genetics in infectious diseases*. 2014;21:575-82.
- (27) European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe. 2013. Disponible en: <http://ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>
- (28) Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Consultado el 17-04-16. Disponible en: <http://www.aemps.gob.es/laAEMPS/portada/home.htm>

