



**Curso acreditado por la  
S.E.F.H.**



**Actividad acreditada  
por la Comisión de  
Formación Continuada  
con 8,3 créditos**

## **Dirección**

Dr. Josep Ribas Sala

Dr. Xavier Bonafont Pujol

 **ferrer** | Farma  
Hospital



Los módulos completos del 1º, 2º, 3º, 4º y 5º Curso de Formación Continuada  
para FARMACÉUTICOS DE HOSPITAL, están disponibles en:  
<http://www.fundacionpromedic.org>



**Diseño gráfico**

MPM Publicidad

**Impresión**

Gráficas

Edición llevada a cabo  
gracias a la colaboración de



©Fundación PROMEDIC  
Reservados todos los derechos. No puede reproducirse,  
almacenarse en un sistema de recuperación o transmitirse  
en forma alguna por medio de cualquier procedimiento sea  
éste mecánico, electrónico, de fotocopia, grabación  
o cualquier otro, sin previo permiso escrito del editor

ISBN 978-84-88904-22-5 (Obra completa 2 libros)  
ISBN 978-84-88904-23-9 (libro nº 1)  
Depósito legal: B-00000-00

## FORMACIÓN CONTINUADA

PARA FARMACÉUTICOS DE HOSPITAL VI

### Resistencias por antibióticos. Situación actual en España.

**Rafael Cantón Moreno y María Isabel Morosini**  
Hospital Ramón y Cajal (Madrid)

### Avances en el manejo de los analgésicos en el tratamiento del dolor.

**Carlos Crespo Diz, Juan E. Quevedo Saco, Ana Suárez Rodríguez,  
M<sup>a</sup> Isabel Riobo Verdeal y José Ramón Caeiro Rey**  
Complejo Hospitalario Universitario (Santiago de Compostela)

### Robotización de los servicios de farmacia.

**Teresa Barmejo Vicedo y Covadonga Perez Menendez Conde**  
Hospital Ramón y Cajal (Madrid)

### Papel del servicio de farmacia en los ensayos clínicos.

**Alicia Herrero Ambrosio y Pilar Gomez Salcedo**  
Hospital La Paz (Madrid)

### La trazabilidad relacionada con el proceso farmacoterapéutico.

**Mónica Soler Sobrón**  
Responsable de salud de AECOC (Barcelona)

### El teléfono móvil y la atención al paciente.

**Ferran Sala Piñol**  
Hospital Germans Trias i Pujol (Badalona)

**FORMACIÓN CONTINUADA**

PARA FARMACÉUTICOS DE HOSPITAL VI

**1.1**

**RESISTENCIAS A ANTIMICROBIANOS.  
SITUACIÓN ACTUAL  
EN ESPAÑA**

**Rafael Cantón Moreno y María Isabel Morosini**

Servicio de Microbiología y CIBER en Epidemiología  
y Salud Pública (CIBERES),  
Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS).  
Hospital Universitario Ramón y Cajal. (Madrid)



**ferrer** | Farma Hospital



# SUMARIO 1.1

## 1. INTRODUCCIÓN

## 2. RESISTENCIAS BACTERIANAS

- 2.1. Concepto de resistencia
- 2.2. Resistencia intrínseca
- 2.3. Resistencia adquirida: mutacional e hipermutación
- 2.4. Resistencia adquirida: elementos genéticos de transferencia de resistencia

## 3. MULTIRRESISTENCIA Y CAPITALISMO GENÉTICO

## 4. RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN MICROORGANISMOS GRAMNEGATIVOS

- 4.1. *Escherichia coli*
- 4.2. *Klebsiella pneumoniae*
- 4.3. *Enterobacter* spp.
- 4.4. *Pseudomonas aeruginosa*
- 4.5. *Acinetobacter baumannii*
- 4.6. *Stenotrophomonas maltophilia*
- 4.7. *Burkholderia cepacia*

## 5. RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN MICROORGANISMOS GRAMPOSITIVOS

- 5.1. *Staphylococcus aureus*
- 5.2. Estafilococos coagulasa negativa
- 5.3. Enterococo

## 6. CONCLUSIONES

## 7. BIBLIOGRAFÍA

## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha observado un aumento generalizado de las bacterias resistentes a los antimicrobianos y se aíslan con mayor frecuencia microorganismos multirresistentes, sobre todo en el ámbito hospitalario<sup>(1,2,3)</sup>. Este hecho limita la efectividad de las opciones terapéuticas disponibles y agrava la ausencia de nuevos antimicrobianos que soslayan estos mecanismos de resistencia<sup>(4)</sup>. Esta situación ha estado propiciada por el efecto de selección del uso masivo de antimicrobianos y la facilidad con que las bacterias desarrollan mecanismos de resistencia y alcanzan este carácter<sup>(5)</sup>. Estos procesos son esencialmente la mutación y la adquisición de estructuras genéticas que vehiculan los determinantes genéticos de resistencia. Con ello se facilita su persistencia y la dispersión de los genes de resistencia y de las bacterias que los contienen<sup>(6,7)</sup>.

En las tablas 1 y 2 se señalan los problemas actuales más importantes de resistencia a los antimicrobianos tanto para microorganismos gramnegativos como grampositivos, respectivamente. En general en España, la resistencia en el ámbito hospitalario es similar o incluso inferior a la de otros países de nuestro entorno, si bien los datos pueden variar de una institución a otra dependiendo de la aparición de brotes, epidemias o endemias de los microorganismos resistentes o multirresistentes<sup>(8,9)</sup>.

Asimismo, en las tabla 3 y 4 se indican, respectivamente, los porcentajes de sensibilidad de diferentes microorganismos gramnegativos y grampositivos aislados en el Hospital Universitario Ramón y Cajal en el año 2009.

## 2. RESISTENCIAS BACTERIANAS

### 2.1. Concepto de resistencia

La aproximación al concepto de resistencia puede realizarse desde un punto de vista microbiológico, farmacológico o bajo un prisma clínico. Microbiológicamente, la resistencia a los antimicrobianos se define como la respuesta de los microorganismos para evitar al efecto inhibitorio o letal que ejercen estos compuestos. Fenotípicamente, las bacterias resistentes se reconocen en el laboratorio por ser necesaria una mayor concentración de antimicrobiano para inhibir su crecimiento que en aquellas que se denominan sensibles<sup>(10)</sup>. Esta concentración se expresa generalmente en valores de CMI (concentración mínima inhibitoria). Las poblaciones sensibles, también denominadas salvajes, carecen de mecanismos de resistencia y se inhiben por concentraciones bajas de antimicrobianos. Estas últimas no suelen presentar genes de resistencia aunque en algunos casos puede demostrarse su existencia mediante técnicas de microbiología molecular si bien no se expresan con posterioridad<sup>(11)</sup>.

Tabla 1. Microorganismos gramnegativos y problemas actuales de resistencia	
Microorganismo	Problemas actuales
<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Incremento de aislados con BLEE, sobre todo por enzimas del tipo CTX-M. Elevada presencia de estos mecanismos en el medio extrahospitalario</li> <li>- Incremento de aislados con AmpC plasmídicas (cefamicinas)</li> <li>- Resistencia a fluoroquinolonas y/o aminoglucósidos, en particular en aislados con BLEE</li> <li>- Emergencia de aislados con resistencia a quinolonas asociados a genes <i>qnr</i>, <i>aac(6')</i>-<i>lb-cr</i> y <i>qepA</i> ligados a integrones de clase 1 en plásmidos epidémicos en cepas con BLEE</li> <li>- Emergencia de resistencia a carbapenems por metalo-beta-lactamasas (VIM, IMP, NDM) y carbapenemasas de clase A (KPC)</li> </ul>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia a cefalosporinas de amplio espectro por BLEE o AmpC plasmídicas</li> <li>- Emergencia de resistencia a carbapenems por metalobeta-lactamasas (VIM, IMP, NDM) y carbapenemasas de clase A (KPC)</li> </ul>
<i>Enterobacter spp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Incremento de resistencia a cefalosporinas de 3ª generación por hiperproducción de AmpC</li> <li>- Dispersión de clones productores de BLEE</li> </ul>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Incremento de resistencia a ceftazidima por hiperproducción de AmpC. Aumento de aislamientos productores de BLEE</li> <li>- Resistencia a carbapenems por alteración de permeabilidad, hiperexpresión de bombas de expulsión o metalo-beta-lactamasas</li> <li>- Resistencia pleiotrópica por hiperexpresión de bombas de expulsión</li> </ul>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia intrínseca a cefalosporinas</li> <li>- Resistencia a carbapenems por carbapenemasas (VIM, OXA) y/o alteración de la permeabilidad</li> </ul>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia pleiotrópica por impermeabilidad e hiperexpresión de bombas de expulsión</li> <li>- Resistencia a betalactámicos (activad conjunta de enzimas L1 y L2)</li> </ul>
<i>Burkholderia cepacia</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia pleiotrópica por impermeabilidad, múltiples bombas de expulsión y PBPs alteradas</li> <li>- Resistencia a betalactámicos por betalactamasas cromosómicas inducibles de clase A (betalactamasas ss)</li> </ul>

Tabla 2. Microorganismos grampositivos y problemas actuales de resistencia	
Microorganismo	Problemas actuales
<i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia a la meticilina (SARM) asociada a todos los beta-lactámicos</li> <li>- Resistencia a aminoglucósidos, macrólidos y quinolonas en SARM</li> <li>- Sensibilidad disminuida a los glucopéptidos (GISA)</li> <li>- Resistencia a vancomicina en SARM (VRSA) asociada al gen <i>vanA</i> transferida desde <i>Enterococcus faecalis</i></li> </ul>
<i>Staphylococcus coagulasa negativa (SCN)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia a la meticilina (SCNRM)</li> <li>- Sensibilidad disminuida a la teicoplanina</li> </ul>
<i>Enterococcus faecium</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resistencia intrínseca a cefalosporinas y aminoglucósidos</li> <li>- Resistencia a la ampicilina asociada a la diseminación del complejo clonal CC17</li> <li>- Resistencia de alto nivel a aminoglucósidos (gentamicina y/o estreptomina)</li> <li>- Resistencia glucopéptidos en determinadas áreas geográficas (EEUU, Portugal, Italia, Grecia, Irlanda, ...)</li> <li>- Descripción de aislados resistentes a linezolid y/o quinupristina/dalfopristina</li> </ul>

SARM: *S. aureus* resistente a la meticilina; GISA: *glycopeptide intermediate S. aureus*; VRSA: *vancomycin resistant S. aureus*;  
BLEE: beta-lactamasas de amplio espectro

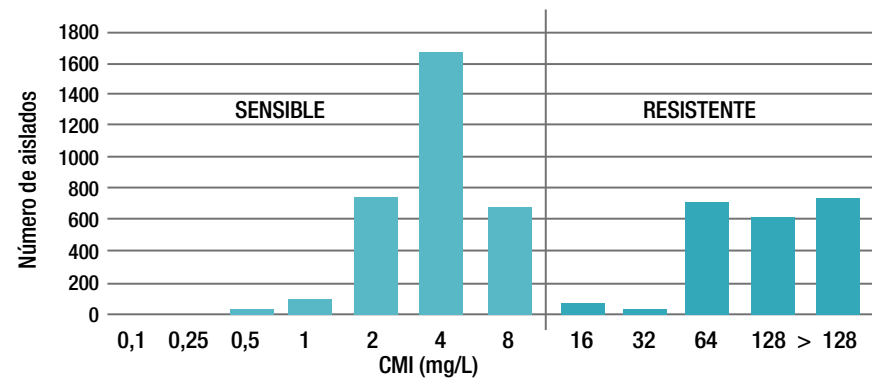
Tabla 3. Perfil de sensibilidad (% de aislados sensibles) a diferentes antimicrobianos en microorganismos gramnegativos aislados en el Hospital Universitario Ramón y Cajal durante el año 2009															
MICROORGANISMOS	AMX	AUG	PTZ	CFZ	CXM	CTX <sup>1</sup>	CAZ <sup>2</sup>	IMP	MER	AMK	GEN	TOB	CIP	FOS	SXT
<i>Escherichia coli</i>	36	89	97	59	90	92	92	100	100	98	91	89	61	97	67
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	82	88	73	85	87	87	96	96	98	94	92	77	46	83
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	82	86	64	80	89	89	98	98	97	95	94	83	59	89
<i>Salmonella spp.</i>	66	96	99	94	97	98	98	100	100	0	0	0	69	99	92
<i>Proteus mirabilis</i>	56	98	99	86	99	99	99	99	100	93	88	91	74	72	52
<i>Proteus vulgaris</i>	0	95	100	0	0	98	98	100	100	98	100	100	95	78	78
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	0	82	0	0	68	65	97	98	96	100	97	93	59	93
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	85	0	0	73	73	93	94	99	95	89	83	57	90
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	90	0	0	74	73	98	98	98	93	91	69	98	81
<i>Serratia marcescens</i>	0	0	99	0	0	94	95	97	98	0	99	0	88	74	99
<i>Morganella morganii</i>	0	0	96	0	0	77	77	99	100	96	80	85	59	4	66
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	82	0	0	0	79	74	80	73	59	70	59	16	0
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	88	0	0	0	84	96	90	94	86	92	73	0	0
<i>Stenotroph. maltophilia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	3	38	0	90

AMX: amoxicilina; AUG: amoxicilina/clavulánico; PTZ: piperacilina/tazobactam; CFZ: cefazolina; CXM: cefuroxima; CTX: cefotaxima; CAZ: ceftazidima; IMP: imipenem; MER: meropenem; AMK: amikacina; GEN: gentamicina; TOB: tobramicina; CIP: ciprofloxacino; FOS: fosfomicina; SXT: cotrimoxazol  
<sup>1</sup>La sensibilidad a cefotaxima implica sensibilidad a ceftriaxona y cefepima; <sup>2</sup>La sensibilidad a ceftazidima implica sensibilidad a cefepima y aztreonam

Tabla 4. Perfil de sensibilidad (% de aislados sensibles) a diferentes antimicrobianos en microorganismos grampositivos aislados en el Hospital Universitario Ramón y Cajal durante el año 2009						
MICROORGANISMOS	PEN	OXA <sup>1</sup>	ERT <sup>2</sup>	CLI	VAN <sup>3</sup>	ANR <sup>4</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	73	66	95	100	ND
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	73	13	97	31	00	ND
<i>Enterococcus faecalis</i>	100	0	0	0	100	59/68
<i>Enterococcus faecium</i>	15	0	0	0	98	18/75

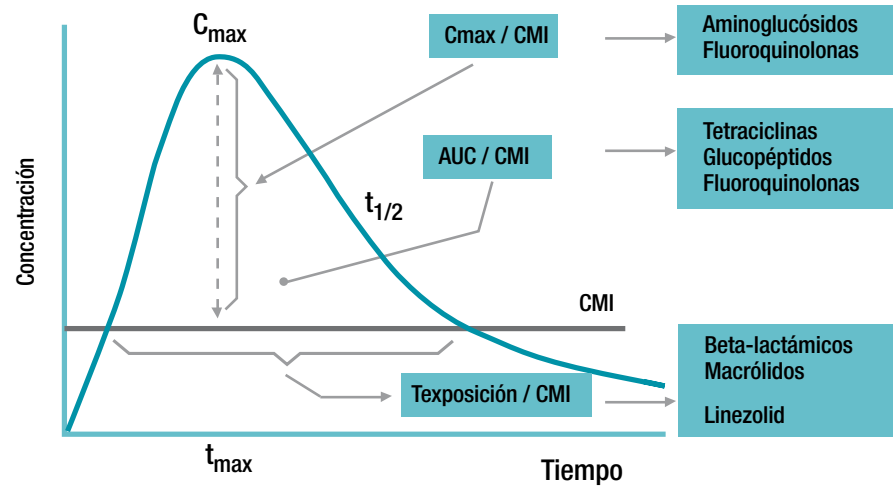
PEN: penicilina; OXA: oxacilina; ERT: eritromicina; CLI: clindamicina; VAN: vancomicina;  
ANR: alto nivel de resistencia a los aminoglucósidos; ND: no definido  
<sup>1</sup>La sensibilidad a la oxacilina implica sensibilidad a la cloxacilina y a otros beta-lactámicos en *Staphylococcus spp.*  
<sup>2</sup>La sensibilidad a la eritromicina implica sensibilidad a la claritromicina y a la azitromicina  
<sup>3</sup>La sensibilidad a la vancomicina implica, en general, sensibilidad a la teicoplanina  
<sup>4</sup>Porcentaje de aislamientos sin alto nivel de resistencia a estreptomina/gentamicina y por tanto, posible sinergia con beta-lactámicos

Figura 1. Valores de CMI de ampicilina en *Escherichia coli*.



Valores de CMI de ampicilina en *Escherichia coli*. Se observa una población sensible (CMI ≤ 8 mg/L) y otra resistente (CMI > 8 mg/L). Datos (5277 observaciones) tomados de EUCAST (HYPERLINK "http://www.eucast.org" http://www.eucast.org).

Figura 2. Índices farmacocinéticos/farmacodinámicos (Fc/Fd) indicando los que son más adecuados para cada grupo de antimicrobianos.



En la figura 1 se representan los diferentes valores de CMI de un antimicrobiano para distintos aislados de la misma especie, diferenciando aquellos que son sensibles de los resistentes.

Desde un punto de vista farmacológico, es necesario correlacionar los valores farmacocinéticos de un antimicrobiano con los de la CMI. Simplificando esta relación, el microorganismo se denomina resisten-

te cuando la concentración del antimicrobiano en el lugar de la infección está por debajo del valor de la CMI (no hay suficiente fármaco para inhibir el microorganismo considerado) y sensible cuando se supera el valor de CMI (la cantidad de antibiótico en el lugar de la infección es superior a la concentración mínima necesaria para inhibir el microorganismo). En la actualidad esta relación es más sofisticada y se emplean los denominados índices Fc/Fd (farmacocinética/ farmacodinamia) – área bajo la curva por encima de la CMI (AUC/CMI), tiempo por encima de la CMI (T/CMI) y la concentración máxima por encima de la CMI (Cmax/CMI) – y es frecuente la realización de modelos matemáticos para predecir el éxito o el fracaso de los tratamientos<sup>(12, 13)</sup>. En la figura 2 se representan los índices Fc/Fd y se indican cuáles son los más adecuados para cada grupo de antimicrobiano.

Por último y más cercano a la práctica clínica, la resistencia se define cuando para una bacteria determinada (responsable de una infección) y un valor de CMI del antimicrobiano se observa un fracaso terapéutico cuando se utiliza ese fármaco con esquemas de tratamiento estándar. Por el contrario, se considera sensible cuando se obtiene un éxito terapéutico. Los resultados de los ensayos clínicos, bien en fase de registro o con posterioridad, se utilizan para establecer la correlación entre los valores de CMI y el fracaso o éxito terapéutico<sup>(14)</sup>.

El criterio microbiológico así como los índices Fc/Fd y la correlación de los valores de CMI con el éxito o fracaso terapéutico se emplean para definir los denominados puntos de corte (o de ruptura) que separan los microorganismos sensibles de los resistentes<sup>(10,14,15)</sup>. Los puntos de corte se establecen a nivel internacional por diferentes comités como el "Clinical and Laboratory Standards Institute" en Estados Unidos o el "European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing" en Europa<sup>(10,15)</sup>.

## 2.2. Resistencia intrínseca

La resistencia a los antimicrobianos en una población bacteriana puede ser intrínseca, todas las bacterias tienen ese carácter de manera natural, o adquirida, bien por mutación o por adquisición de genes de resistencia. En ambos casos la resistencia se manifiesta por valores elevados de CMI mientras que la sensibilidad por valores bajos de CMI y puede ser por tanto medida e interpretada en el laboratorio. La acumulación de los datos de CMI en los estudios de vigilancia o a partir de la práctica clínica habitual y su interpretación para las diferentes bacterias estudiadas se utiliza para establecer los perfiles de sensibilidad y de resistencia, pudiendo compararse entre unas instituciones con otras<sup>(16)</sup>.

## 2.3. Resistencia adquirida: mutacional e hipermutación

En general se considera que las bacterias sensibles pueden transformarse en resistentes por la adquisición de una o varias mutaciones en los denominados genes de resistencia. No obstante, todas las poblaciones bacterianas presentan de manera natural mutantes resistentes (con estas mutaciones) que pueden seleccionarse durante el tratamiento antimicrobiano y con posterioridad diseminarse bajo la acción selectiva de los antimicrobianos<sup>(8)</sup>.

La frecuencia de mutantes resistentes en una población bacteriana depende del microorganismo, del gen o los genes de resistencia implicados y del antimicrobiano considerado. Entre los ejemplos de resistencia mutacional destacan:

- Las mutaciones en los genes reguladores de la expresión de la beta-lactamasa cromosómica inducible AmpC en *Enterobacter* spp. o *Pseudomonas aeruginosa* y que

determina un aumento permanente en su producción (fenómeno denominado de desrepresión) y resistencia a las cefalosporinas de 3ª generación<sup>(17)</sup>.

- Las mutaciones en los genes reguladores de las bombas de expulsión que incrementan su expresión y suelen afectar a diferentes clases de antibióticos (fluoroquinolonas, tetraciclinas, aminoglucósidos y determinados beta-lactámicos). Este es el caso de *P. aeruginosa* y los sistemas de expulsión MexAB-OprM o MexXY-OprM (18).

- Las mutaciones en las regiones QRDR (*quinolone resistance determining region*) de las topoisomerasas (girasa y topoisomerasa IV, involucradas en la síntesis y duplicación del genoma bacteriano) que confieren resistencia de clase tanto en microorganismos grampositivos como en gramnegativos<sup>(19)</sup>.

En los patógenos nosocomiales es frecuente que un mismo microorganismo acumule mutaciones en diferentes genes que afectan la sensibilidad de distintos antimicrobianos<sup>(8)</sup>. Algunas estrategias de utilización de antimicrobianos pueden favorecer esta situación como la rotación de antimicrobianos (*cycling*). Preconizada por algunos autores a principio de los años 2000 se ha mostrado ineficaz en ambientes en los que existe una alta densidad de selección como las unidades de cuidados intensivos (UCIs)<sup>(20)</sup>. Este hecho podría ser

responsable del incremento en estas unidades de aislados de *Enterobacter* spp. y *P. aeruginosa* hiperproductores de AmpC (determinan resistencia a las cefalosporinas), con defecto en las porinas o canales de entrada de los antimicrobianos (resistencia a los carbapenems) y con mutaciones en las topoisomerasas (resistencia a las fluoroquinolonas).

En ocasiones, existen bacterias en las que la frecuencia de mutación es anormalmente elevada, de 10 a 1000 veces más alta, por lo que tienden con gran facilidad a acumular resistencias a los antimicrobianos. Estas bacterias, denominadas mutadoras o hipermutadoras, tienen defectos en los sistemas de edición o reparación del ADN que corrigen errores durante la replicación bacteriana<sup>(21)</sup>. En poblaciones normales la frecuencia de este fenómeno es inferior al 1%, siendo mucho más elevado (10-50%) en bacterias asociadas a infecciones crónicas, aquellas en las que el inóculo bacteriano es elevado y cuando existe una gran utilización de antimicrobianos. Ejemplo de ello sería el de *P. aeruginosa* en la exacerbación de la bronquitis crónica o en la infección broncopulmonar en los pacientes con fibrosis quística<sup>(22,23)</sup>.

La presencia de poblaciones hipermutadoras en pacientes hospitalizados es menor que en las situaciones anteriormente descritas, si bien la elevada densidad de selección, los fenómenos de persistencia y la facilidad con que se produce la transmisión de los microorganismos resistentes de paciente a paciente favorecen tasas de resistencias elevadas en este compartimento<sup>(1,24)</sup>.

#### 2.4. Resistencia adquirida: elementos genéticos de transferencia de resistencia

Al igual que los fenómenos de mutación, la transferencia de genes de resistencia entre diferentes poblaciones bacterianas es un fenómeno habitual y es corresponsable del fuerte incremento de la resistencia a los antimicrobianos en muchos microorganismos con importancia clínica, como las beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) en *Enterobacteriaceae* que confieren resistencia a las cefalosporinas de tercera y cuarta generación, las metalo-beta-lactamasas (MBL) (beta-lactamasas IMP, VIM, NDM) y carbapenemasas de clase A (beta-lactamasas KPC) que confieren resistencia a los carbapenems; *Streptococcus pneumoniae* con resistencia a los macrólidos, los enterococos resistentes a la vancomicina (ERV) y la reciente emergencia de *Staphylococcus aureus* con resistencia a la vancomicina (SARV). En todos ellos se ha constatado la importancia que tienen algunas plataformas genéticas, entre ellas las secuencias de inserción (IS), los transposones (Tn) y los plásmidos. En algunos casos han sido varias estructuras las que han contribuido simultáneamente a este incremento. Uno de los ejemplos más recientes y espectaculares es el de las BLEE de tipo CTX-M responsables de la mayoría de la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación en *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*<sup>(25)</sup>.

Se ha demostrado la participación de secuencias de inserción (IS) (*ISEcp1B*) en la movilización de genes *bla*<sub>CTX-M</sub> a partir de sus ancestros cromosómicos presentes en *Kluyvera* spp.<sup>(17)</sup>. También IS con capacidad de movilización y expresión de genes de resistencia. Entre ellas destaca *ISCR1* (anteriormente CR1 u ORF513)

ligada a genes de carbapenemasas (*bla*<sub>VIM</sub>), de cefamicinas (*bla*<sub>CMY</sub>), de la producción de metilasas ribosomales que afectan a los lugares de actuación de los aminoglucósidos (*armA*) y de enzimas CTX-M (*bla*<sub>CTX-M-9</sub> y *bla*<sub>CTX-M-2</sub>), entre otras. *ISCR1* está ligada a integrones de clase 1 (estructuras genéticas capaces de albergar y acumular genes de resistencia) que contienen a su vez determinantes de resistencia a aminoglucósidos, tetraciclinas, trimetoprim, sulfonamidas y a compuestos con amonios cuaternarios que confieren un perfil de multirresistencia a los microorganismos que contienen estas plataformas<sup>(26)</sup>. En ocasiones estas estructuras están a su vez integradas en elementos de transposición y éstos incluidos en plásmidos conjugativos<sup>(27)</sup>. Con todo, se favorece enormemente la diseminación de determinados genes de resistencia. Como ejemplo podría señalarse lo acontecido con la enzima CTX-M-15, anclada a *ISEcp1* y situada en una isla de multirresistencia insertada en plásmidos conjugativos y éstos a su vez ligados a clones epidémicos de *E. coli* (ST131) identificados en diferentes áreas geográficas<sup>(28,29)</sup>. Estos eventos serían responsables de su enorme crecimiento y diseminación, constituyendo, como se ha denominado, una auténtica pandemia.

La participación de los plásmidos en la resistencia a los antimicrobianos es más evidente en los microorganismos gramnegativos que en los grampositivos, mientras que en estos últimos son los elementos de transposición los que han tenido un papel más relevante<sup>(8,30)</sup>. Uno de los transposones más difundidos es el Tn4001 que contiene el gen *aac6'-aph2'* responsable de la síntesis de una enzima bifuncional capaz de inactivar a la mayoría de los aminoglucósidos y ampliamente difundida en *S. aureus* y enterococo<sup>(31)</sup>. Otro ejemplo, es el Tn1546 que se



asocia a plásmidos autotransferibles. Esta plataforma es responsable de la diseminación de la resistencia a vancomicina con fenotipo VanA (resistencia a vancomicina y teicoplanina) en enterococo y de su transferencia reciente a *S. aureus*<sup>(32)</sup>.

### 3. MULTIRRESISTENCIA Y CAPITALISMO GENÉTICO

Como se ha señalado con anterioridad, no es infrecuente en la actualidad que una misma bacteria presente varios mecanismos de resistencia. Para expresar esta situación se han acuñado diferentes términos, entre ellos multirresistencia (“multi-drug resistance”, MDR); resistencia extrema (“extreme-drug resistance”, XDR) y panresistencia (“pan-drug resistance” PDR)<sup>(33)</sup>.

El término multirresistente comenzó a utilizarse en *Mycobacterium tuberculosis*, *pneumoniae* y *aureus* y hace referencia a bacterias que presentan resistencia a tres o más grupos o familias de antimicrobianos no relacionados utilizados habitualmente en el tratamiento de las infecciones producidas por éstos. En la actualidad se aplica a cualquier patógeno con estas características. Los términos XDR y PDR reflejan escasas opciones terapéuticas o la resistencia a todas las opciones disponibles, respectivamente. Como ejemplo de esta última situación estaría la descrita en Grecia con respecto a las carbapenemasas en *K. pneumoniae* que además de ser resistentes a todos los antibióticos beta-lactámicos, también han adquirido resistencia a aminoglucósidos y quinolonas e incluso a las gliciliclinas (tigeciclina) y colistina<sup>(34)</sup>.

La multirresistencia suele estar produ-

cida por la adquisición de varios mecanismos de resistencia por parte de una misma bacteria aunque en algunas ocasiones un solo mecanismo puede afectar a antimicrobianos de diferentes familias (resistencia pleiotrópica). Los ejemplos más habituales pueden encontrarse en *P. aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*. Aunque estos microorganismos son intrínsecamente resistentes a algunos antimicrobianos tienen la capacidad de acumular diferentes mutaciones, algunas de las cuales, como las que afectan a los sistemas de eflujo, determinan resistencia a varios grupos de antimicrobianos<sup>(18)</sup>. También pueden adquirir y albergar diferentes determinantes transferibles de resistencia.

El carácter multirresistente limita las opciones terapéuticas disponibles y también facilita la persistencia de los microorganismos resistentes por un efecto de co-selección<sup>(8)</sup>. Esta situación también aumenta las posibilidades de transmisión de los genes responsables de la resistencia a las bacterias sensibles y acelera el incremento global de las tasas de resistencia<sup>(27)</sup>. La multirresistencia se ha asociado al concepto de capitalismo genético que hace referencia a la mayor probabilidad que tienen los microorganismos resistentes de adquirir mayor resistencia a los antimicrobianos<sup>(8,35)</sup>. 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 y la persistencia de las poblaciones bacterianas bajo la acción selectiva de los antimicrobianos. La

persistencia de las poblaciones bacterianas y de los genes y estructuras que los albergan ha contribuido a su diseminación no sólo entre las bacterias patógenas sino también entre las que forman parte de la microbiota residente y en el medioambiente<sup>(24)</sup>.

En términos clínicos la co-selección y el impacto ecológico sobre los microorganismos presentes en la microbiota ha sido calificada como un “daño colateral” derivado de la propia utilización de los antimicrobianos. Este término también se aplica a la persistencia de los elementos genéticos de resistencia y a las estructuras que los albergan ya que por efecto colateral se permite el mantenimiento de genes de resistencia a antimicrobianos con escasa utilización como es el caso de las sulfonamidos o determinados aminoglucósidos como la kanamicina o la estreptomina.

La multirresistencia se considera un problema sanitario de primera índole. No solo se produce en los hospitales sino también en el ámbito extrahospitalario. Como ejemplo destacan las enterobacterias productoras de BLEE y *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), este último ligado a instituciones socio-sanitarias en las que su comportamiento es similar a lo que acontece en los hospitales. Los pacientes colonizados o infectados por estas bacterias ingresan en el hospital y pueden constituir focos de dispersión. Asimismo, cuando son dados de alta, los pacientes pueden continuar colonizados transfiriendo este problema a instituciones extrahospitalarias en las que existe un uso importante de antimicrobianos y es relativamente sencillo que se produzca la transmisión a otros individuos<sup>(36)</sup>.

### 4. RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN MICROORGANISMOS GRAMNEGATIVOS

Si bien se han descrito mecanismos de resistencia a todos los grupos o familias de antimicrobianos con actividad frente a microorganismos gramnegativos, los que tienen mayor trascendencia afectan a las familias de uso más frecuente, tanto por su actividad como por su espectro y que incluyen a los beta-lactámicos, los aminoglucósidos y las fluoroquinolonas. En el caso de los beta-lactámicos, antimicrobianos que representan más del 50% de los utilizados en clínica, la presencia de beta-lactamasas transferibles (BLEE, carbapenemasas y beta-lactamasas cromosómicas, particularmente las de expresión inducible) constituyen una limitación al uso empírico de estos compuestos<sup>(37)</sup>. A la resistencia a fluoroquinolonas mediada por mutaciones cromosómicas de las dianas de acción (topoisomerasas) se han añadido recientemente diferentes mecanismos plasmídicos que, aunque confieren en general bajo nivel de resistencia, pueden transferirse fácilmente y constituir una plataforma para el desarrollo subsiguiente de mayores niveles de resistencia<sup>(38)</sup>. Asimismo, también se ha descrito un nuevo mecanismo de resistencia a los aminoglucósidos que se suma a la clásica producción de enzimas modificadoras y que consiste en la metilación enzimática del 16S rRNA que confiere resistencia casi a la totalidad de estos compuestos<sup>(39)</sup>.

Las BLEE son enzimas en su mayoría de codificación plasmídica y por lo tanto con gran facilidad para dispersarse entre microorganismos incluso de diferentes géneros; poseen una actividad hidrolítica que incluye penicilinas, cefalosporinas y aztreonam pero no carbapenems ni cefamicinas, son inhibidas por el ácido clavulánico y

también por el sulbactam y el tazobactam. En este grupo se incluyen las enzimas de espectro extendido derivadas de TEM-1, TEM-2 y SHV-1, las enzimas denominadas CTX-M que derivan del género *Kluyvera* y otras con menor prevalencia (OXA, PER, VEB, GES,...) El grupo CTX-M ha adquirido recientemente una mayor relevancia sobre los demás tipos de BLEE debido a su dispersión global intra y extrahospitalaria favorecida en parte por la diseminación de determinados clones, como por ejemplo *E. coli* 025b-ST131 que es, a su vez, muy virulento<sup>(28)</sup>.

Las BLEE se aíslan tanto en *E. coli*, género en que cada vez presentan mayor incidencia, como en *K. pneumoniae* y en menor porcentaje en otras enterobacterias y ocasionalmente en bacilos gramnegativos no fermentadores como *P. aeruginosa* y *A. baumannii*. Como se ha indicado con anterioridad, la presencia de genes *bla*<sub>BLEE</sub> en plataformas genéticas móviles (plásmidos y/o transposones) y su asociación en integrones con determinantes de resistencia a otros compuestos no beta-lactámicos ha contribuido a su éxito epidemiológico<sup>(27, 29)</sup>.

La beta-lactamasa cromosómica inducible AmpC, característica de *Enterobacter* spp, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens* y *P. aeruginosa*, tiene un espectro hidrolítico que abarca a las aminopenicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación, incluyendo cefoxitina, y no es inhibida por el ácido clavulánico. Su desrepresión extiende el espectro hidrolítico a la ticarcilina y a la piperacilina, a las cefalosporinas de 3ª generación (cefotaxima, ceftriaxona y ceftazi-

dima) y al aztreonam, respetando en mayor medida a las cefalosporinas de 4ª generación (cefepima) en *Enterobacteriaceae* pero no en *P. aeruginosa*. La codificación plasmídica del gen *ampC*, movilizado a partir de diferentes especies como *C. freundii*, *Hafnia alvei* o *Aeromonas* spp., entre otras, da origen a las enzimas denominadas cefamicinasas. Éstas han sido descritas en *K. pneumoniae*, *Salmonella* y *Proteus mirabilis*, géneros que no poseen AmpC cromosómica y su incidencia en cepas de *E. coli* es creciente<sup>(40)</sup>. La actividad de las BLEE, así como la de AmpC desreprimida o la de las cefamicinasas no afecta a los carbapenems (imipenem, meropenem y ertapenem) sin embargo, cuando estas enzimas coexisten con otros mecanismos (hiperexpresión de sistemas de expulsión y/o alteración de permeabilidad) se puede evidenciar resistencia a estos compuestos. Los carbapenems, por su parte, pueden ser hidrolizados, total o parcialmente, por las carbapenemasas. Estas enzimas constituyen grupos diversos con un perfil de hidrólisis común que abarca a todos los beta-lactámicos, excepto el aztreonam en el caso de las MBL. Existen dos grandes grupos de carbapenemasas:

- 1) naturales o intrínsecas, cuyos genes son de localización cromosómica y son características, entre otros, de *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Myroides* spp., *Chryseobacterium* spp. y *Elizabethkingia* spp.
- 2) adquiridas, asociadas a genes localizados en su mayoría en integrones

y éstos, a su vez, en plásmidos y/o transposones. En este último grupo, y según las características moleculares, se pueden diferenciar tres tipos de enzimas: clase A, clase B (MBL) y clase D (oxacilinasas). En *Enterobacteriaceae*, esencialmente en *Klebsiella* spp. y en *E. coli*, se han descrito carbapenemasas adquiridas sobre todo de clase B (IMP, VIM) y recientemente NDM) y de clase A (KPC). En *P. aeruginosa* y *A. baumannii* son mayoritariamente de las clases B (IMP y VIM) y D (OXA), respectivamente. La detección fenotípica de las carbapenemasas puede ser complicada debido a que, en muchos casos el nivel de expresión es bajo y puede pasar inadvertido a menos que coexistan otros mecanismos como pérdida de porinas (aumento de la impermeabilidad) y/o presencia de bombas de expulsión<sup>(41)</sup>.

Muchos de los aislados que producen las enzimas anteriormente citadas son también resistentes a las fluoroquinolonas. Además de las mutaciones en las regiones QRDR de las topoisomerasas y de los mecanismos asociados a bombas de expulsión, como se ha indicado previamente, se han descrito mecanismos cuyos genes codificadores están albergados en plásmidos. Estos mecanismos consisten en: a) síntesis de proteínas (Qnr) que protegen a las topoisomerasas de la acción de las quinolonas, b) inactivación, asociada a la presencia de una mutante de la enzima modificadora de aminoglucósidos [AAC(6)-Ib-cr] que muestra actividad moderada sobre ciprofloxacino y norfloxacino (pero no sobre levofloxacino) y c) expresión de bombas de expulsión (QepA)<sup>(42)</sup>. Se ha demostrado que, a

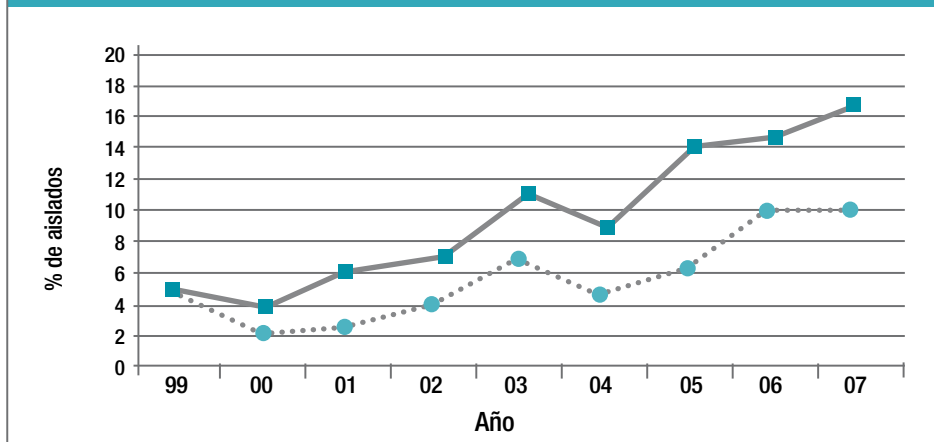
pesar del bajo nivel que confieren todos ellos, su presencia puede facilitar la selección de mecanismos de mayor nivel de resistencia así como la co-selección de otros mecanismos, entre ellos beta-lactamasas, enzimas modificadoras de aminoglucósidos (acetilasas, adenilasas y fosfatasa) y metilasas que alteran la unión entre el ARN 16S y el aminoglucósido, como las codificadas por los genes *arm*, *rmt* y *npm*<sup>(43)</sup>.

#### 4.1. *Escherichia coli*

*E. coli* es el microorganismo comensal aerobio más común en humanos pero también constituye un patógeno con elevada incidencia como agente causal de infecciones hospitalarias y de la comunidad. *E. coli* es responsable de aproximadamente el 15-20% de las bacteriemias nosocomiales. Según el estudio GEIH-BLEE de 2006, el porcentaje global de cepas de *E. coli* con BLEE en España ascendía al 6%, siendo mayoritarias las de origen extrahospitalario (70%) y de pacientes con infecciones urinarias (78%)<sup>(44)</sup>. En aislados invasivos, la incidencia encontrada en España<sup>(45)</sup> fue del 7,7%, con un 21% de cepas multiresistentes que incluye principalmente al cotrimoxazol (33%) y ciprofloxacino (19%) siendo los porcentajes de resistencia para gentamicina y tobramicina del 7% y 5%, respectivamente<sup>(45)</sup>. La incidencia de cepas de *E. coli* productoras de BLEE en el Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid fue de un 8%. En la figura 3 se puede observar la evolución de la prevalencia de aislados con resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, en aislados de *E. coli* recogidos en el estudio EPINE<sup>(46,47)</sup>.

Diversos estudios de colonización fecal han demostrado un gran aumento de *E. coli* con BLEE tanto en la población hospitalaria como extrahospitalaria con cifras que superan el 12% y el 5%,

**Figura 3. Evolución de la prevalencia de aislados de *Escherichia coli* con resistencia a cefalosporinas de tercera generación en España (datos tomados del estudio EPINE, Estudio de la Prevalencia de la Infección Nosocomial en España). Se diferencia aquellas infecciones nosocomiales adquiridas en el hospital de aquellas procedentes de la comunidad.**



respectivamente. Asimismo, y al igual que en las cepas de origen clínico, predominan las enzimas de tipo CTX-M con una resistencia simultánea a quinolonas que supera el 50%. Por el contrario, todas ellas son sensibles a los carbapenems, incluyendo el ertapenem<sup>(48)</sup>.

El incremento de *E. coli* con BLEE en la comunidad es un problema de salud pública de difícil contención. La infección urinaria, sobre todo en mujeres mayores, con frecuencia asociada a bacteriemia, así como la co-resistencia a cotrimoxazol, aminoglucósidos y fluoroquinolonas es un patrón habitual en estos casos por lo que es habitual que se produzcan fenómenos de co-selección. Debido al ingreso relativamente frecuente de este tipo de pacientes en los hospitales, la barrera entre los aislados comunitarios y hospitalarios es cada

vez más difusa y el intercambio de cepas entre ambos compartimentos constituye un evento epidemiológico complejo, tanto para su análisis como para su manejo desde el punto de vista del tratamiento<sup>(49)</sup>.

Hasta el presente, las carbapenemasas descritas en *E. coli* son infrecuentes y pertenecen al grupo de las enzimas VIM (clase B) y KPC (clase A). Recientemente, se ha descrito en el Reino Unido y los Estados Unidos la emergencia de la enzima NDM-1, en algunos casos, los pacientes implicados habían tenido relación con la India. Su rápida difusión podría suponer un nuevo problema de salud pública<sup>(50,51)</sup>. En España, la incidencia de estos aislamientos es baja, con aislados ocasionales o bien implicados en epidemias causadas por *K. pneumoniae* que albergan estas enzimas<sup>(52)</sup>. Al igual que los descritos en otros países, los genes res-

ponsables (*bla<sub>VIM-1</sub>*) se asocian a integrones de clase 1 y están alojados en plásmidos transferibles<sup>(53)</sup>. La expresión de la resistencia a carbapenems es baja, incluso por debajo del punto de corte de sensibilidad, y su detección en el laboratorio es difícil con los métodos de rutina. Estas cepas, así como las productoras de BLEE, han demostrado sensibilidad *in vitro* a la tigeciclina, sin embargo, la evidencia clínica del éxito terapéutico tras el uso de este antimicrobiano en estas infecciones es muy escasa hasta el presente.

La resistencia de *E. coli* a las fluoroquinolonas en España es elevada (cerca al 35%) y constituye un motivo de preocupación. La mayoría de las cepas deben su resistencia a mutaciones en las topoisomerasas, siendo poco frecuente la presencia del gen *qnr*. No obstante, su incidencia podría estar infravalorada al tratarse de un mecanismo de bajo nivel de expresión. En la mayoría de los estudios, la resistencia a fluoroquinolonas en *E. coli* se asocia con la presencia concomitante de BLEE así como también en cepas productoras de cefamicinas. Según los datos de EARS-net 2009, en España la resistencia global de las cepas de *E. coli* a aminoglucósidos fue del 11,2%<sup>(45)</sup>.

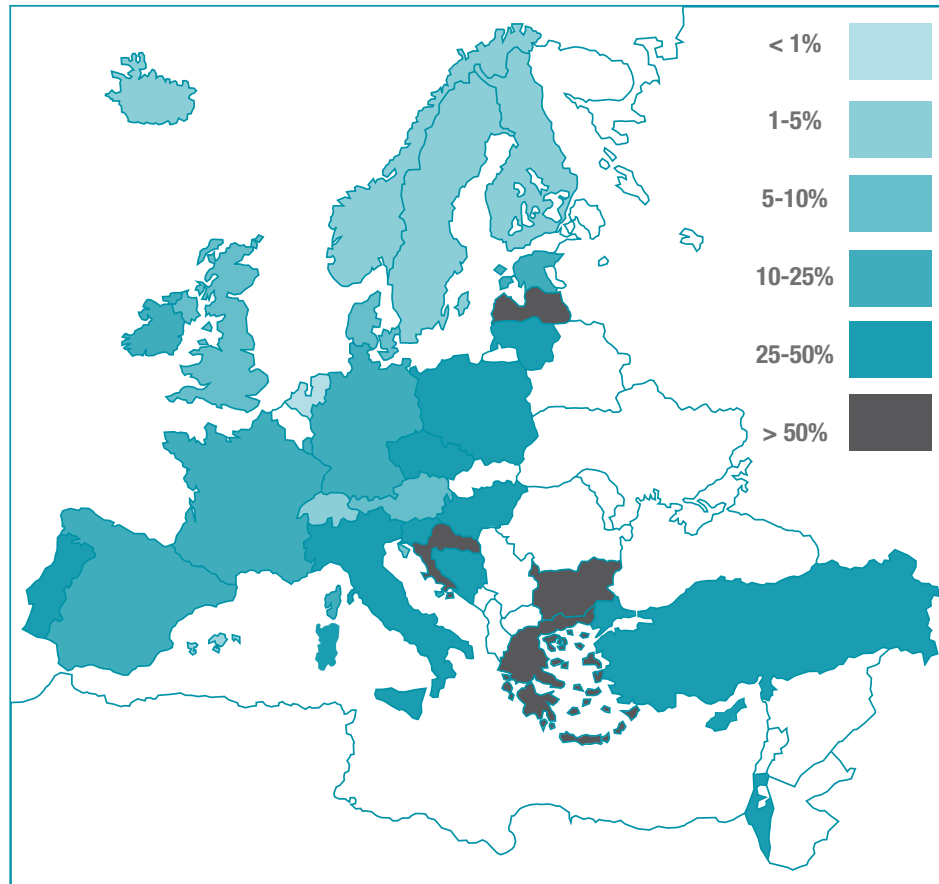
#### 4.2. *Klebsiella pneumoniae*

Esta especie está asociada con mucha frecuencia a brotes epidémicos hospitalarios, particularmente en UCI y con estrecha relación al uso previo de antimicrobianos, particularmente fluoroquinolonas (co-selección) como factor de riesgo asociado<sup>(54)</sup>. La incidencia de infecciones nosocomiales por *K. pneumoniae* oscila entre el 10-15%. En España, los datos del Proyecto GEIH-BLEE de 2006 indicaban un porcentaje del 8,3% de aislados de *K. pneumoniae* productores de BLEE<sup>(44)</sup>. A diferencia de *E. coli*, la mayoría

de los aislados de *K. pneumoniae* son de origen hospitalario y proceden mayoritariamente de Servicios de Pediatría y UCIs, siendo las BLEE más frecuentes de tipo CTX-M y SHV, con menor presencia del tipo TEM. La multiresistencia, al igual que en *E. coli*, es también una característica en este tipo de aislados, con elevados porcentajes de resistencia a cotrimoxazol, sulfonamidas, ciprofloxacino y aminoglucósidos. En aislados invasivos, la incidencia de *K. pneumoniae* con BLEE en España fue del 11,9%<sup>(45)</sup>. En la figura 4 se indica esta situación en comparación con la observada en otros países en Europa (45). En el Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid este valor fue de un 13% en el año 2009 (datos no publicados). Es de destacar que el comportamiento *in vitro* de la tigeciclina en este tipo de aislamientos es bueno, si bien un pequeño porcentaje puede mostrar sensibilidad disminuida a este antimicrobiano<sup>(55)</sup>.

*Klebsiella* es un microorganismo definido como “buen vehículo” de plásmidos y en este género, a modo de ejemplo, se han descrito todas las variantes de las carbapenemasas KPC. La diseminación global de este tipo de cepas es alarmante y en algunos países como Estados Unidos, Grecia, Israel y Polonia son endémicos en algunos hospitales. Recientemente se ha descrito el primer brote de *K. pneumoniae* productora de KPC-3 en un hospital español lo que debe ser motivo de especial atención ante la facilidad de su dispersión y las consecuencias que esta situación puede plantear desde el punto de vista epidemiológico y de tratamiento<sup>(56)</sup>. Asimismo, la dispersión de cepas clonales productoras de MBL en pacientes con factores de riesgo de infección nosocomial ya no es infrecuente en algunos hospitales españoles. También se han descrito aislados de *K. pneumoniae* resistentes

**Figura 4. Proporción de aislados de *Klebsiella pneumoniae* resistente a cefalosporinas de tercera generación aisladas en diferentes países en Europa (datos tomados del estudio EARS-net, European Antimicrobial Resistance Surveillance System).**



a imipenem pero debido a la presencia de una cefamicinasa junto con la pérdida de una porina.

La presencia del gen *qnr* en plásmidos de *Klebsiella* spp. parece tener cierta importancia epidemiológica en los Estados

Unidos pero no supone por el momento un hallazgo habitual en Europa y en particular en España. La resistencia global de las cepas de *K. pneumoniae* a fluoroquinolonas en España en el año 2009 fue del 14,9% y del 9,1% a los aminoglucósidos, respectivamente<sup>(45)</sup>.

#### 4.3. *Enterobacter* spp.

*Enterobacter cloacae* y *Enterobacter aerogenes* son las especies de este género que se aíslan más frecuentemente y rara vez producen infecciones primarias en pacientes inmunocompetentes. Las cepas de *Enterobacter* spp. están implicadas, esencialmente, en infecciones de origen hospitalario como infección urinaria, neumonía, bacteriemia asociada a catéteres e infección de herida quirúrgica. Ambas especies producen de forma constitutiva la beta-lactamasa cromosómica inducible AmpC. El uso de cefalosporinas de 3ª generación puede seleccionar mutantes desreprimidas de esta enzima y dichas mutantes son resistentes a todos los beta-lactámicos, incluidos los inhibidores de beta-lactamasas pero pueden conservar niveles aceptables de sensibilidad a cefepima y mantienen la sensibilidad a los carbapenems. Su incidencia es superior en aislados de UCI y varía de unas instituciones a otras (15%-40% de los aislados).

La producción de BLEE en este género no es infrecuente y en el caso de *E. aerogenes* se ha descrito en varios países (Francia, Bélgica, Portugal, España e Italia) un clon epidémico productor de TEM-24 en diferentes hospitales<sup>(57,58)</sup>. La resistencia asociada a otros antimicrobianos, como aminoglucósidos y fluoroquinolonas (así como a cloranfenicol, sulfonamidas y trimetoprim) dificulta el tratamiento de las infecciones causadas por este tipo de cepas y contribuye al fenómeno de coselección ya mencionado que a su vez contribuye a la permanencia de estos clones circulantes. Otras BLEE descritas en *E. aerogenes* son TEM-20, SHV-5 y SHV-12. Asimismo, en esta especie se han encontrado las carbapenemasas IMP-1 y VIM-2. La alteración de ciertas porinas de la membrana externa de algunas cepas de *E. aerogenes* puede aumentar también la CMI a

carbapenems, particularmente a imipenem.

Por su parte, en *E. cloacae* también se ha descrito la presencia de variantes de SHV (SHV-12) y diversas carbapenemasas. La mayoría de estas últimas son de clase A, tanto de localización cromosómica (NmcA e IMI-1) Recientemente se ha comunicado en Madrid la presencia de cepas de *E. cloacae* con MBL VIM-1 cuyos genes están asociados a integrones de clase 1<sup>(52)</sup>. Estas cepas son, generalmente, sensibles a gentamicina, ampicacina y colistina, presentan sensibilidad variable a ciprofloxacino y todas son sensibles a tigeciclina.

En relación a la resistencia a fluoroquinolonas, además de las mutantes de topoisomerasas, también se ha encontrado el gen *qnrA* en cepas *E. cloacae*, en ocasiones asociadas a brotes epidémicos en hospitales de Europa. Recientemente ha sido descrita la presencia de los genes *qnrS1*, *qnrB5* y *qnrB2* en aislados de *E. cloacae* de hospitales españoles. En ese mismo trabajo se detectó la presencia del gen *acc (6')-Ib-cr* (que codifica la enzima con actividad dual frente a aminoglucósidos y a fluoroquinolonas hidrofílicas) en un 2,6% de estos aislados<sup>(59)</sup>.

La resistencia global a aminoglucósidos en *Enterobacter* spp. aislados en el Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid (año 2009) oscila entre el 0 y el 10%, siendo éste último el porcentaje observado para tobramicina y *E. cloacae*.

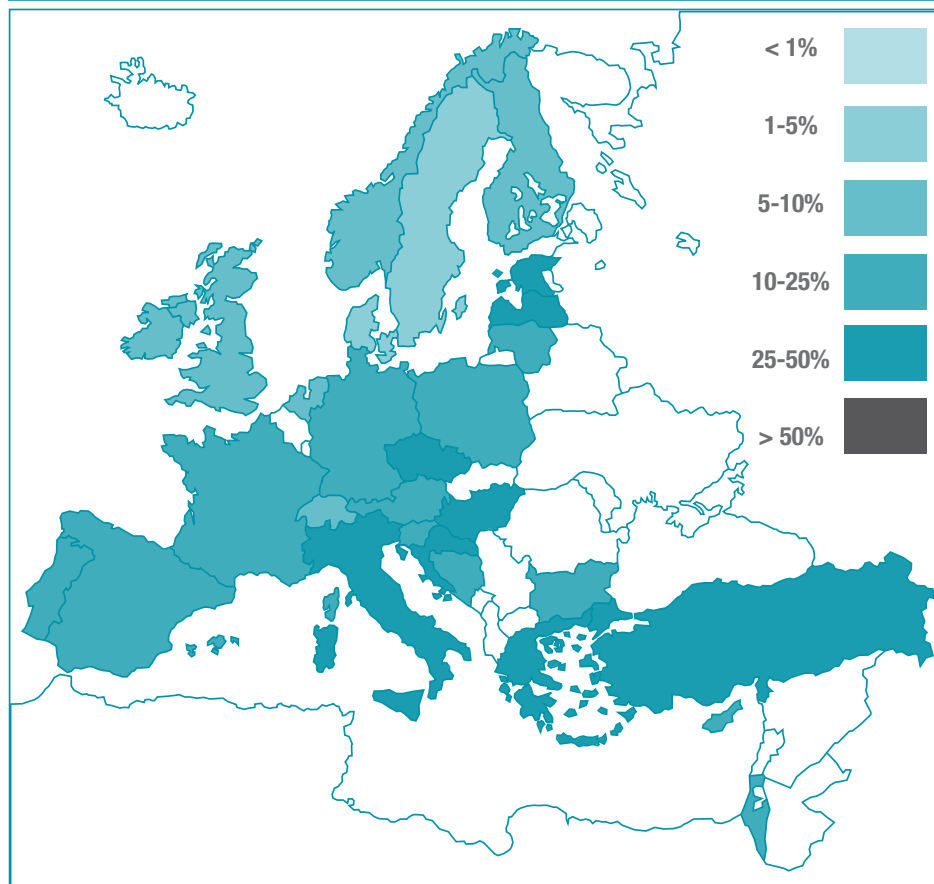
#### 4.4. *Pseudomonas aeruginosa*

*P. aeruginosa* es un microorganismo que causa infecciones con una elevada morbilidad y mortalidad particularmente en los pacientes críticos (neutropénicos e inmunodeprimidos) y los cuadros más frecuentes en los que está implicado son la bacteriemia, la neumonía asociada a

ventilación mecánica y las infecciones de heridas. Este microorganismo también es el agente causal de la mayoría de los casos de neumonía comunitaria grave en pacientes con patología subyacente como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y es conocida su implicación en la colonización/infección pulmonar en los pacientes con fibrosis quística.

El mecanismo de resistencia de mayor trascendencia epidemiológica en esta especie es la hiperexpresión de los sistemas de bombas de expulsión que se asocia con frecuencia a impermeabilidad por pérdida de porinas. El sistema de expulsión prevalente es MexAB-OprM cuya hiperexpresión determina resistencia pleiotrópica, incluyendo a meropenem y ureidopenicilinas.

**Figura 5. Proporción de aislados de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a carbapenems en diferentes países en Europa (datos tomados del estudio EARS-net, European Antimicrobial Resistance Surveillance System).**



La resistencia a imipenem se produce por pérdida de la porina OprD que está co-regulada con el sistema de expulsión MexEF-OprN y que puede seleccionarse con el uso de fluoroquinolonas. En estos casos, aunque no haya exposición previa a carbapenems, se produce resistencia a quinolonas e imipenem y puede presentarse una sensibilidad disminuida a meropenem<sup>(60)</sup>. La resistencia a ceftazidima, cefepima y aztreonam se debe esencialmente a la hiperproducción de AmpC, a la presencia de carbapenemasas o incluso de BLEE. Estas últimas son poco frecuentes, en general son variantes de OXA y en menor proporción, PER, pero su incidencia está en aumento y se han descrito variantes de TEM, SHV, VEB y GES. No existen por el momento aislados con CTX-M. Los genes responsables de su síntesis están localizados en el cromosoma, plásmidos o integrones. En España sólo se han descrito aislados con PER-1<sup>(61)</sup>.

En el estudio VIRA-2006 el porcentaje de sensibilidad a imipenem de *P. aeruginosa* aisladas de hospital fue del 90% y del 96% a meropenem lo que destaca que las carbapenemasas no constituyen una causa importante de resistencia en este microorganismo en España<sup>(62)</sup>. Cuando se trata de aislados invasivos<sup>(45)</sup> la resistencia a carbapenems es mayor y asciende al 13%. Según este mismo estudio, la resistencia a ceftazidima es del 11%, del 8,4% a piperacilina-tazobactam, 23,2% a fluoroquinolonas (ciprofloxacino) y 18% a aminoglucósidos. En la figura 5 se indica el porcentaje de resistencia a carbapenems en España en comparación con el de otros países en Europa<sup>(45)</sup>.

El perfil de sensibilidad de *P. aeruginosa* fue estudiado en un número importante de aislados de diferentes hospitales españoles (42% adquiridas en la comunidad) en el año 2003 y el por-

centaje de resistencia a carbapenems era en ese momento del 18,9%. Un estudio posterior determinó que de esas cepas resistentes, el 0,4% eran productoras de MBL<sup>(63)</sup>.

Se han descrito varias carbapenemasas en *P. aeruginosa*, en particular MBL cuyos genes forman parte de integrones localizados en plásmidos conjugativos y en algunos casos insertados en el cromosoma. Las MBL descritas hasta la fecha en *P. aeruginosa* corresponden a los grupos moleculares IMP, VIM, GIM y SPM. Aunque en Italia y Grecia existen epidemias y endemias por cepas de *P. aeruginosa* productoras de MBL, en España por el momento no ocurre así, siendo las mayoría de las enzimas encontradas del tipo VIM-2<sup>(64)</sup>.

#### 4.5. *Acinetobacter baumannii*

Las especies de *Acinetobacter* sólo son virulentas en pacientes graves y/o con compromiso del sistema inmunitario. *A. baumannii* es causa frecuente de infecciones intrahospitalarias en todo el mundo, en forma de brotes y en general está implicado en casos de neumonía, bacteriemia, meningitis, infecciones del tracto urinario, peritonitis e infecciones de piel y de tejidos blandos; todas ellas se asocian con una elevada mortalidad, en parte porque el microorganismo frecuentemente presenta resistencia a múltiples fármacos. La multiresistencia en *Acinetobacter* está facilitada por su condición de transformante natural mediante la cual incorpora con facilidad ADN exógeno.

Las especies de *Acinetobacter* se encuentran en el agua y en el suelo; en el ámbito hospitalario se han aislado de humidificadores, equipos de ventilación, piel del personal y en diversas superficies. En las superficies secas, *A. baumannii* pue-

de sobrevivir más de 25 días. Las especies de *Acinetobacter* integran la flora cutánea y el personal de los hospitales puede ser portador de estos bacilos sobre todo en sus manos. Entre los factores de riesgo de adquisición son relevantes la ventilación mecánica, la internación prolongada en UCI y el tratamiento previo con antimicrobianos.

Los mecanismos de resistencia a beta-lactámicos en *A. baumannii* son principalmente: afinidad reducida de sus PBP2 o menor expresión de alguna de ellas (PBP2) y producción de beta-lactamasas, con actividad cefalosporinasa (AmpC y posiblemente otras no caracterizadas) y carbapenemasas, particularmente de tipo OXA que incluyen OXA-51 (intrínseca) y las adquiridas OXA-23,-40 y -58. Asimismo se han encontrado MBL de los grupos VIM, IMI y SIM. En España, una BLEE tipo oxacilinasas (OXA-37) se ha descrito en un 27% de las cepas de *A. baumannii* aisladas de diversos hospitales españoles<sup>(65)</sup>. Las BLEE no son frecuentes en esta especie y entre las descritas destacan PER-1, PER-2 y VEB-1 (esta última implicada en brotes hospitalarios) Se ha descrito también la presencia de otras BLEEs tales como CTX-M-2, TEM-92, SHV-5 y SHV-12. El papel de las bombas de expulsión en esta especie no está tan estudiado como en *P. aeruginosa*.

El estudio multicéntrico GEIH-2000 de *A. baumannii* realizado en 25 hospitales españoles reveló que la polimixina B presentaba un 100% de sensibilidad y que el porcentaje de cepas completamente sensibles a la mayoría de los antimicrobianos estudiados era inferior al 50% (excepto

minociclina, con un 66% de cepas sensibles). Los porcentajes de sensibilidad a imipenem, meropenem y ampicilina fueron del 53%, 43% y 38%, respectivamente. Sin duda es alarmante, aunque conocida, la elevada resistencia a ciprofloxacino (>90%) y a ceftazidima (>80%) en esta especie<sup>(66)</sup>. Estos datos han sido confirmados en el estudio VIRA-2006, aunque podrían variar dependiendo de la clonalidad de los aislados<sup>(62)</sup>. Asimismo, se ha descrito la diseminación de un clon con bajo nivel de resistencia a carbapenems debido a la carbapenemasa OXA-40 responsable de brotes epidémicos en hospitales españoles y portugueses<sup>(67)</sup>.

Tigeciclina se ha utilizado con éxito en infecciones causadas por *A. baumannii* pero se ha descrito la aparición de resistencia durante el tratamiento en infecciones que cursan con bacteriemia, por lo que esta posibilidad debe vigilarse con atención<sup>(68)</sup>.

#### 4.6. *Stenotrophomonas maltophilia*

*S. maltophilia* es un patógeno oportunista, de ámbito nosocomial, intrínsecamente multiresistente y aunque es considerado un microorganismo de baja virulencia, cuando produce infección es difícil de erradicar debido a las escasas alternativas terapéuticas. Se aísla en el tracto respiratorio de pacientes de riesgo, incluyendo los que presentan fibrosis quística. Como en la mayoría de los microorganismos de adquisición hospitalaria, el ingreso previo (y prolongado), el estado de inmunosupresión y la antibioterapia de amplio espectro son los factores de riesgo más relevantes para su adquisición. La multiresistencia de esta especie es debida principalmente a la pro-

ducción de beta-lactamasas cromosómicas con actividad MBL y penicilasa-cefalosporinasa (L1 y L2, respectivamente), a la impermeabilidad de la membrana externa y a sistemas de expulsión. Estos mecanismos le confieren resistencia de alto grado frente a beta-lactámicos, incluyendo cefalosporinas de tercera generación y carbapenems, aminoglucósidos, macrólidos y de forma variable a las fluoroquinolonas<sup>(65)</sup>. Los beta-lactámicos más activos son el moxalactam, no utilizado en España por problemas de toxicidad hematológica y la ticarcilina/clavulánico, no comercializado en nuestro país. Entre los compuestos que presentan una mejor actividad destacan las nuevas fluoroquinolonas (moxifloxacina y levofloxacina) con porcentajes de resistencia inferiores al 10% y valores de CMI fácilmente alcanzables en el pulmón del fibrótico quístico y también el cotrimoxazol (SXT) que, a pesar de su escaso poder bactericida, es el antimicrobiano de elección en las infecciones por *S. maltophilia*. Como ya se han descrito cepas resistentes a SXT se recomienda administrarlo en asociación, entre ellos con la colistina, la ticarcilina/clavulánico o la doxiciclina (o minociclina) La mayoría de las cepas presentan una enzima modificante constitutiva [AAC (6') IZ] y sistemas de bombeos que afectan a los aminoglucósidos.

#### 4.7. *Burkholderia cepacia*

Las bacterias del complejo *B. cepacia* son patógenos oportunistas que causan infecciones muy graves en pacientes con fibrosis quística y con enfermedad granulomatosa crónica. Estos patógenos son intrínsecamente resistentes a la mayoría de los antimicrobianos utilizados habitualmente en fibrosis quística incluyendo la colistina. Al igual que *S. maltophilia*, esta especie es intrínsecamente resistente a las penicilinas, pero

con sensibilidad variable a las asociaciones de las penicilinas con los inhibidores de beta-lactamasa (piperacilina/tazobactam y ticarcilina/clavulánico). También son resistentes a las cefalosporinas primera, segunda y tercera generación pero sin afectar del todo a la ceftazidima, cefepima y aztreonam<sup>(69)</sup>. Pueden aparecer sensibles *in vitro* al imipenem y al meropenem, sin embargo no son de elección ya que pueden expresar una carbapenemasa. Los aminoglucósidos también se muestran como resistentes, aunque demuestran sinergia en asociación con los beta-lactámicos. Otras asociaciones ensayadas con éxito *in vitro* son cloranfenicol/ceftazidima y cloranfenicol/minociclina e incluso asociaciones de varios fármacos, entre ellos un beta-lactámico, ciprofloxacino y tobramicina.

## 5. RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN MICROORGANISMOS GRAMPOSITIVOS

El incremento de la resistencia en microorganismos grampositivos es un hecho que se constata habitualmente en el medio hospitalario pero, en muchos casos, el origen de estos aislados es comunitario. Existe un flujo dinámico de pacientes y microorganismos entre estos dos compartimentos que plantea un reto a la hora de diferenciar su origen y establecer estrategias de tratamiento. Los aislados de SARM tanto de origen hospitalario como comunitario, las cepas de SARM con sensibilidad disminuida a glucopéptidos (VISA o GISA) y las resistentes a vancomicina (VRSA), los estafilococos coagulasa negativa (SCN), particularmente los resistentes a metilicina con o sin sensibilidad disminuida a la teicoplanina así como los aislados de *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium* resistentes a glucopépti-

dos son los microorganismos que plantean mayores problemas<sup>(70, 30)</sup>.

La hospitalización prolongada, el uso de dispositivos invasivos, la inmunosupresión, la presión ejercida por la utilización prolongada de antimicrobianos y el ingreso en instituciones de crónicos o la procedencia de residencias de la tercera edad son factores de riesgo asociados a infecciones por microorganismos gram-positivos multirresistentes.

Otros patógenos como *pneumoniae* son más problemáticos en el medio extra hospitalario, aunque se han descrito epidemias intrahospitalarias por este microorganismo<sup>(71)</sup>.

### 5.1. *Staphylococcus aureus*

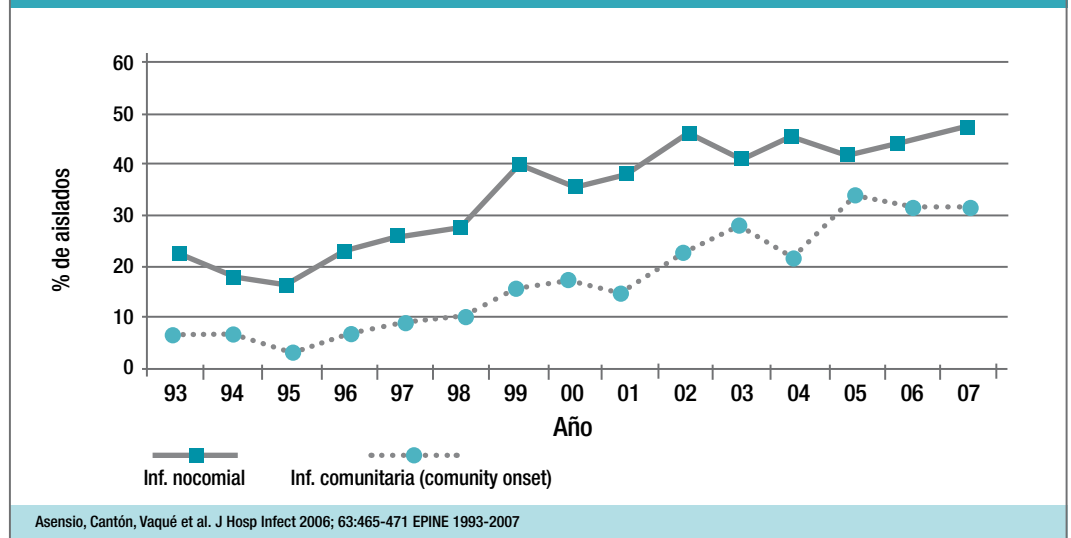
Alrededor del 90% de las cepas de *S. aureus* produce una beta-lactamasa plasmídica (penicilinas) responsable de la resistencia a la penicilina y amoxicilina en este microorganismo. Estos aislados son sensibles al resto de los antibióticos beta-lactámicos, incluyendo a amoxicilina-clavulánico. Las tasas en España de este tipo de aislados son similares a las encontradas en otros países.

Sin duda, el mayor desafío terapéutico lo constituyen las cepas de SARM. Éstas albergan un elemento genético móvil, *SCCmec* (*Staphylococcal cassette chromosome*), integrado en el cromosoma. El gen responsable de la resistencia a la meticilina, *mecA*, y sus genes reguladores están presentes en este elemento. El gen *mecA* codifica la síntesis de una proteína adicional supernumeraria (PBP2a) con baja o nula

afinidad por todos los beta-lactámicos. Se han descrito mayoritariamente cinco tipos de *SCCmec* (I, II, III, IV, y V) con estructura y organización molecular diferente que tienen una distribución distinta cuando se analiza el origen de los aislados. Los tipos I, II y III son frecuentes entre las cepas hospitalarias y presentan además del gen *mecA* otros genes de resistencia generalmente a aminoglicósidos, macrólidos, lincosamidas, tetraciclinas y quinolonas. El tipo IV suele observarse en cepas de la comunidad y no suele llevar determinantes de resistencia asociados<sup>(72)</sup>. Estas cepas comunitarias suelen producir la leucocidina de Pantón-Valentine (PVL), toxina responsable de que produzcan formas graves de furunculosis recurrente y neumonías necrosantes, sobre todo en niños y jóvenes<sup>(73)</sup>. La corresponsencia más frecuente en cepas comunitarias incluye a las tetraciclinas (doxiciclina) y en algunos casos al ácido fusídico. En España, sin embargo, el elemento *SCCmec* IV predomina también en las cepas hospitalarias y son muy infrecuentes las cepas productoras de PVL asociadas a clones ampliamente distribuidas en la comunidad en EEUU y países de Sudamérica. Precisamente su hallazgo en España se ha asociado con comunidades de inmigrantes procedentes de estas latitudes<sup>(74)</sup>.

En los hospitales españoles, el porcentaje de aislados de *S. aureus* resistente a la meticilina es aproximadamente del 30%<sup>(75)</sup>. Esta cifra es superior a la de otros países en el norte de Europa. En el estudio EPINE (Estudio de Prevalencia de la infección Nosocomial en España) esta cifra es algo mayor, siendo superior las que se asocian

**Figura 6. Evolución de la prevalencia de aislados de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina en España (datos tomados del estudio EPINE, Estudio de la Prevalencia de la Infección nosocomial en España). Se diferencia aquellas infecciones nosocomiales adquiridas en el hospital de aquellas procedentes de la comunidad.**



a infecciones originadas en el hospital que las que proceden de la comunidad, destacando en todos los casos el carácter multirresistente de los aislados (Figura 6)<sup>(46,47)</sup>. El denominado clon Ibérico, predominante hasta mediados de la década de los 90 (ST247-MRSA-I) en España y cuyos marcadores de resistencia incluían gentamicina, ciprofloxacino, eritromicina, clindamicina, tobramicina y rifampicina ha sido reemplazado en la actualidad por otros clones, siendo actualmente mayoritarios clones pertenecientes al ST125-MRSA-IV, con elevado porcentaje de resistencia a ciprofloxacino (>90%) y eritromicina (65%), pero mayoritariamente sensibles a gentamicina (80%) y a rifampicina (95%) y resistentes a tobramicina<sup>(76)</sup>. Recientemente se ha detectado en nuestro país el clon ST398. Su origen se sitúa en granjas de cerdos en centro Europa, tiene una dispersión

muy rápida y puede representar un problema de salud pública en un futuro<sup>(77)</sup>.

Desde el punto de vista de la resistencia, recientemente se han señalado dos problemas emergentes; el primero se asocia a aislados con sensibilidad disminuida a los glucopéptidos (CMI de vancomicina mayor o igual a 2 mg/L) y el segundo con la resistencia al linezolid. La pérdida de sensibilidad a los glucopéptidos (VISA o GISA) en cepas de SARM se ha documentado tanto en España como a nivel mundial y se asocian con el fracaso terapéutico<sup>(78)</sup>. En el estudio VIRA sólo el 69,1% de las cepas estudiadas en 2006 fueron inhibidas por 1 mg/L mientras que en el mismo estudio de 2001 ese porcentaje ascendía al 93,5% y en el de 2004 al 79,2%. Asimismo en 2006 se aisló una cepa con una CMI de 4 mg/L (sensibilidad interme-

día según el criterio del CLSI)<sup>(62)</sup>. Existen estudios en España que han demostrado una mayor mortalidad de pacientes con bacteriemias causadas por SARM en los que la CMI de vancomicina era superior a 1 mg/L<sup>(78)</sup>. En estas cepas se mantiene la actividad de daptomicina<sup>(79)</sup>.

La resistencia a vancomicina en SARM (VRSA, CMI 32-2.048 µg/ml) es un hecho, por el momento, limitado a un número reducido de cepas y solo comunicado en los EEUU. Esta resistencia está mediada por el gen *vanA* originado en un plásmido de *E. faecalis*<sup>(32,80)</sup>. La aparente inestabilidad de este plásmido en las cepas de *S. aureus* podría reducir la magnitud de su diseminación, aunque este hecho no ha sido debidamente demostrado.

Con respecto a los aislados de SARM con resistencia al linezolid, en el estudio VIRA del año 2006 se encontró un aislado de SARM resistente al linezolid (CMI de 64 mg/L) y 4 aislados con sensibilidad disminuida (CMI 2 mg/L) a este antimicrobiano. Esta situación podría cambiar en los próximos años ya que se ha documentado en Madrid, y por primera vez en el mundo, un brote epidémico por SARM resistente al linezolid. El mecanismo implicado no estaba asociado a mutaciones en el ribosoma sino por metilación ribosomal asociado al gen *cfz* de naturaleza plásmidica<sup>(81)</sup>. Anteriormente este gen se había encontrado en aislados de *S. aureus* en Colombia y SCN de origen animal<sup>(82)</sup>.

## 5.2. Estafilococos coagulasa negativa

El porcentaje de cepas resistentes a la

metilina en SCN supera el 70%, claramente superior a lo que acontece en *S. aureus* (Tabla 4). También es mayor el grado de co-resistencia a ciprofloxacino, clindamicina, eritromicina y cotrimoxazol. La disminución de sensibilidad a glucopéptidos está menos estudiada que en *S. aureus*. En general, el porcentaje de aislados con CMI a vancomicina superior a 2 mg/L es inferior al 1%. No obstante, *Staphylococcus haemolyticus* posee menor sensibilidad a teicoplanina (también observada en *Staphylococcus epidermidis* y en menor medida en *Staphylococcus warneri*) y en algún caso con niveles de CMI de hasta 128 µg/ml<sup>(83)</sup>. La posible resistencia a teicoplanina debe tenerse en cuenta siempre que se aísle *S. haemolyticus*, particularmente en pacientes neutropénicos febriles.

En España, la incidencia global de cepas de SCN con sensibilidad disminuida a glucopéptidos también es inferior al 1%. Con respecto a otros compuestos, en el estudio VIRA 2006 se han detectado dos cepas resistentes a linezolid (CIM de 64 y 256 mg/L, respectivamente) y 3 aislados con sensibilidad intermedia a quinupristina-dalfopristina (sensibilidad global 97,8%)<sup>(62)</sup>. La resistencia a linezolid ha sido destacada en algunos hospitales en España en aislados de UCI y hasta ahora asociada a mutaciones en el ribosoma. Es posible que en un futuro y debido al carácter transferible de la resistencia asociada al gen *cfz* y la presión selectiva derivada del uso del linezolid, aumenten los aislados SCN con resistencia a este compuesto<sup>(84,85,86)</sup>.

## 5.3. Enterococo

*E. faecalis* y *E. faecium* son microorganismos comensales de escasa virulencia intrínseca pero están implicados en diferentes cuadros infecciosos cuando existen causas predisponentes (edad avanzada, presencia de sonda urinaria, drenaje biliar externo o endoprótesis, tratamiento previo con cefalosporinas y quinolonas o valvulopatía). *E. faecalis* es el responsable de la mayoría de los casos de bacteriemia (70-80%), sin embargo, debe señalarse el aumento de la bacteriemia por *E. faecium* (>20%) en España<sup>(87)</sup>. Numerosos estudios de vigilancia han revelado la creciente implicación de ambas especies en infecciones nosocomiales debidas sobre todo a la expansión de clones adaptados al ámbito hospitalario<sup>(88)</sup>. En este sentido, se han descrito en América y en Europa dos complejos clonales mayoritarios de *E. faecalis*, CC2 y CC9<sup>(89)</sup>. En España, se ha demostrado la presencia de cepas sensibles y resistentes a la vancomicina pertenecientes a este complejo<sup>(90)</sup>. En *E. faecium* destaca el complejo clonal CC17, cuya dispersión en el medio hospitalario implica un serio problema a la hora de instaurar el tratamiento antimicrobiano. CC17 suele ser resistente a la ampicilina y ciprofloxacino y presenta con mayor frecuencia resistencia a los glucopéptidos<sup>(88)</sup>.

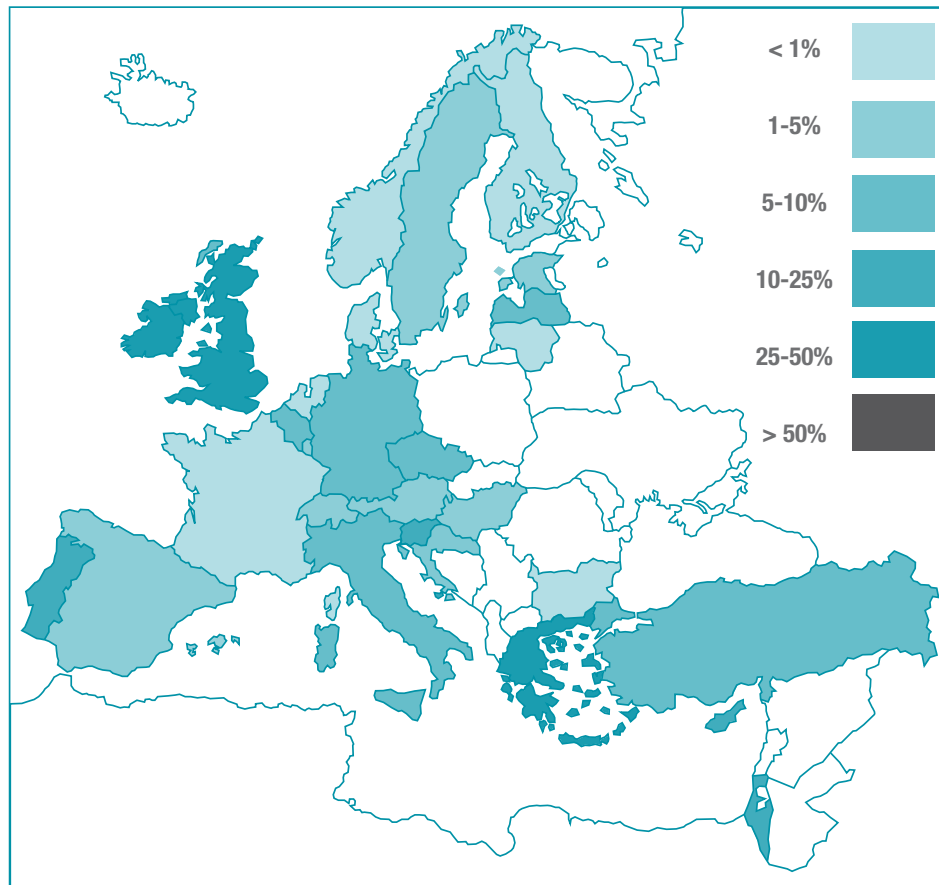
La presencia de beta-lactamasas, habitual en *S. aureus*, sólo se ha descrito de forma esporádica en EEUU en *E. faecalis* y hasta el presente este tipo de aislados no se ha encontrado en España ni en el resto de Europa<sup>(70,91)</sup>. En *E. faecium*, la resistencia a la ampicilina se produce por hiperproducción de la PBP5 o bien por mutaciones en su secuencia aminoacídica, siendo este mecanismo extremadamente infrecuente en *E. faecalis*. En España, la sensibilidad a la ampicilina en *E. faecalis* es superior al 98% (informe EARS-net 2008). Por el contrario, el porcentaje de cepas

resistentes a la ampicilina en *E. faecium* es elevado y oscila entre el 63% y el 73%<sup>(62,45)</sup>. La co-resistencia en esta especie presenta porcentajes superiores al 80% para ciprofloxacino, eritromicina y rifampicina. En general, salvo casos muy infrecuentes, en enterococo la resistencia de alto nivel a gentamicina (CMI superiores a 64 µg/ml) implica resistencia a los demás compuestos de esta familia. Los aislados de *E. faecium* poseen de forma intrínseca una enzima responsable de una resistencia de bajo nivel a tobramicina y kanamicina. En España, la resistencia de alto nivel a aminoglucósidos en *E. faecalis*<sup>(45)</sup> es del 36%. Para *E. faecium*, según este mismo estudio es del 21% siendo, según el estudio VIRA 2006, muy similar para gentamicina (23,6%) y muy elevado para estreptomina (75,3%)<sup>(62)</sup>.

La resistencia a glucopéptidos en *E. faecalis* y *E. faecium* puede ser transferida mediante plásmidos y transposones conjugativos y se debe fundamentalmente a la presencia de los genes *vanA* (alto nivel de resistencia a vancomicina y teicoplanina) y *vanB* (nivel de resistencia variable sólo a vancomicina). En el caso de las cepas portadoras de *vanB* se ha descrito la selección de resistencia a teicoplanina durante el tratamiento con glucopéptidos. Según el estudio EARS-net, en España la resistencia a glucopéptidos en *E. faecalis* es inferior al 1% y en *E. faecium* entorno al 3%. Estas cifras se alejan de las observadas en Portugal o en el Reino Unido<sup>(45)</sup> (Figura 7). En el estudio VIRA de 2006 sólo se detectaron 2 aislados de *E. faecium* resistentes a ambos glucopéptidos (fenotipo VanA) procedentes de diferentes hospitales que eran sensibles a linezolid, tetraciclina y cloranfenicol<sup>(62)</sup>. La multiresistencia, más común en *E. faecium*, incluye a quinupristina-dalfopristina (más del 50% de las cepas exhiben resistencia intermedia o alta a este compuesto



**Figura 7. Proporción de aislados de *Enterococcus faecium* resistente a vancomicina aislados en diferentes países en Europa (datos tomados del estudio EARS-net, *European Antimicrobial Resistance Surveillance System*).**



según dicho estudio), gentamicina (más del 20% de los aislados tiene alto nivel de resistencia) y eritromicina y gentamicina (más del 80% son resistentes a ambos antibióticos).

En *E. faecium*, además del mecanismo *vanA* (alta resistencia a vancomicina y teicoplanina) está empezando a adquirir im-

portancia en nuestro país (al igual que en otros países europeos y asiáticos) el mecanismo mediado por el gen *vanB2* (bajo nivel de resistencia a vancomicina, CMI de 16-32 µg/ml y sensibilidad a teicoplanina, CMI de 0,5 µg/ml)<sup>(92)</sup>. Este gen insertado en el transposón Tn5382 es en el que también está presente el gen que codifica

la PBP5 anómala (responsable de la resistencia a ampicilina), el gen *ermB* que confiere resistencia a eritromicina así como diferentes genes que codifican la síntesis de distintas enzimas modificadoras de aminoglucósidos. Los posibles procesos de selección podría explicar el incremento de este tipo de aislados.

## 6. CONCLUSIONES

La resistencia a los antimicrobianos ha aumentado de forma importante en los últimos años en el medio hospitalario. Este incremento se debe esencialmente a la dispersión de microorganismos resistentes y multiresistentes y a los elementos genéticos responsables de esta resistencia. En los hospitales se produce una alta densidad de selección debido a una elevada utilización de antimicrobianos, en particular en las UCI. Asimismo, el aumento de la resistencia en determinados patógenos en el medio extrahospitalario, como las enterobacterias productoras de BLEE o SARM, asociado en muchos casos a pacientes procedentes de instituciones de cuida-

dos de salud dificulta el control de su dispersión.

La resistencia en España en los patógenos hospitalarios no es muy diferente a la encontrada en los países de nuestro entorno. No obstante, para alguno de ellos como SARM, es superior a la que se observa en países del norte de Europa. En otros casos, como en enterococo, la resistencia a la vancomicina es inferior a la de otros países como Portugal o el Reino Unido. Recientemente, se ha detectado en nuestro país la emergencia de enterobacterias con carbapenemasas (MLB y KPC) cuya dispersión puede suponer un problema importante de salud pública, debido a las limitaciones terapéuticas que presentan y a su asociación con clones con alta facilidad de dispersión. *P. aeruginosa* y *A. baumannii* multiresistente tiene una incidencia variable dependiendo de la situación epidemiológica en cada institución. El uso prudente de antimicrobianos, en asociación con medidas epidemiológicas adecuadas puede limitar la dispersión de estos microorganismos.

1. Livermore DM.  
**Has the era of untreatable infections arrived?**  
*J Antimicrob Chemother.* 2009; 64 (Suppl 1):i29-36.
2. Septimus EJ, Kuper KM.  
**Clinical challenges in addressing resistance to antimicrobial drugs in the twenty-first century.**  
*Clin Pharmacol Ther* 2009; 86:336-9.
3. Hawkey PM, Jones AM.  
**The changing epidemiology of resistance.**  
*J Antimicrob Chemother.* 2009; 64 (Suppl 1):i3-10.
4. ECDC and EMEA Joint Technical report.  
**The bacterial challenge: Time to react.**  
HYPERLINK "<http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/antimicrobial.../JMEA-576176-2009.pdf>"  
[www.ema.europa.eu/pdfs/human/antimicrobial.../JMEA-576176-2009.pdf](http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/antimicrobial.../JMEA-576176-2009.pdf)
5. Wilcox MH.  
**The tide of antimicrobial resistance and selection.**  
*Int J Antimicrob Agents.* 2009; 34 (Suppl 3):S6-10.
6. Woodford N, Ellington MJ.  
**The emergence of antibiotic resistance by mutation.**  
*Clin Microbiol Infect* 2007; 13:5-18.
7. Barlow M.  
**What antimicrobial resistance has taught us about horizontal gene transfer.**  
*Methods Mol Biol.* 2009; 532:397-411.
8. Cantón R, Coque TM, Baquero F.  
**Multi-resistant Gram-negative bacilli: from epidemics to endemics.**  
*Curr Opin Infect Dis* 2003; 16:315-25.
9. Goossens H.  
**European status of resistance in nosocomial infections.**  
*Chemotherapy* 2005; 51:177-81.
10. Brown D, Cantón R.  
**Bases for clinical categorization.**  
*In: Antibiogram. Courvalin P, Leclercq R, Rice L (eds). 2010*
11. Enne VI, Livermore DM, Stephens P, Hall LM.  
**Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction.**  
*Lancet.* 2001; 357:1325-8.
12. Dalhoff A, Ambrose PG, Mouton JW.  
**A long journey from minimum inhibitory concentration testing to clinically predictive breakpoints: deterministic and probabilistic approaches in deriving breakpoints.**  
*Infection* 2009; 37:296-305.
13. Ambrose PG.  
**Monte Carlo simulation in the evaluation of susceptibility breakpoints: predicting the future: insights from the society of infectious diseases pharmacists.**  
*Pharmacotherapy* 2006; 26:129-34.
14. ISO. International Organization for Standardization.  
**2006 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices – Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.**  
*International Standard 20776-1, ISO, Geneva.*
15. Turnidge J, Paterson DL.  
**Setting and revising antibacterial susceptibility breakpoints.**  
*Clin Microbiol Rev* 2007; 20:391-408.
16. Cornaglia G, Hryniewicz W, Jarlier V, Kahlmeter G, Mittermayer H, Stratchounski L, Baquero F; ESCMID Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance.  
**European recommendations for antimicrobial resistance surveillance.**  
*Clin Microbiol Infect* 2004; 10:349-83.
17. Livermore DM, Woodford N.  
**The beta-lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*.**  
*Trends Microbiol* 2006; 14:413-20.
18. Poole K.  
**Efflux-mediated antimicrobial resistance.**  
*J Antimicrob Chemother* 2005; 56:20-51.
19. Hopkins KL, Davies RH, Threlfall EJ.  
**Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments.**  
*Int J Antimicrob Agents.* 2005; 25:358-73.
20. Kollef MH.  
**Is antibiotic cycling the answer to preventing the emergence of bacterial resistance in the intensive care unit?**  
*Clin Infect Dis* 2006; 43 (Suppl 2):S82-8.
21. Blázquez J.  
**Hypermutation as a factor contributing to the acquisition of antimicrobial resistance.**  
*Clin Infect Dis* 2003; 37:1201-9.
22. Oliver A, Cantón R, Campo P, Baquero F, Blázquez J.  
**High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection.**  
*Science* 2000; 288:1251-4.
23. Maciá MD, Blanquer D, Togores B, Sauleda J, Pérez JL, Oliver A.  
**Hypermutation is a key factor in development of multiple-antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* strains causing chronic lung infections.**  
*Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:3382-6.
24. Cantón R.  
**Antibiotic resistance genes from the environment: a perspective through newly identified antibiotic resistance mechanisms in the clinical setting.**  
*Clin Microbiol Infect* 2009; 15 (Suppl 1):20-5.
25. Coque TM, Baquero F, Canton R.  
**Increasing prevalence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in Europe.**  
*Euro Surveill.* 2008; 13(47). pii: 19044.
26. Poirel L, Naas T, Nordmann P.  
**Genetic support of extended-spectrum beta-lactamases.**  
*Clin Microbiol Infect.* 2008; 14 (Suppl 1):75-81.
27. Cantón R, Coque TM.  
**The CTX-M beta-lactamase pandemic.**  
*Curr Opin Microbiol* 2006; 9:466-75.
28. Peirano G, Pitout JD.  
**Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M beta-lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4.**  
*Int J Antimicrob Agents.* 2010; 35:316-21.
29. Coque TM, Novais A, Carattoli A, Poirel L, Pitout J, Peixe L, Baquero F, Cantón R, Nordmann P.  
**Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15.**  
*Emerg Infect Dis* 2008; 14:195-200.
30. Rice LB.  
**The clinical consequences of antimicrobial resistance.**  
*Curr Opin Microbiol.* 2009; 12:476-81.
31. Udou T.  
**Dissemination of nosocomial multiple-aminoglycoside-resistant *Staphylococcus aureus* caused by horizontal transfer of the resistance determinant (*aacA/aphD*) and clonal spread of resistant strains.**  
*Am J Infect Control.* 2004; 32:215-9.
32. Périchon B, Courvalin P.  
**VanA-type vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*.**  
*Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:4580-7.
33. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J.  
**Bad bugs, no drugs: no ESCAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America.**  
*Clin Infect Dis.* 2009; 48:1-12.
34. Rossolini GM, Mantengoli E, Docquier JD, Musmanno RA, Coratza G.  
**Epidemiology of infections caused by multiresistant gram-negatives: ESBLs, MBLs, panresistant strains.**  
*New Microbiol* 2007; 30:332-9.
35. Baquero F, Coque TM, Cantón R.  
**Antibiotics, complexity, and evolution.**  
*ASM News* 2003; 69; 547-52
36. Esposito S, Leone S, Noviello S, Lanniello F, Fiore M.  
**Antibiotic resistance in long-term care facilities.**  
*New Microbiol* 2007; 30:326-31.
37. Paterson DL.  
**Resistance in Gram-Negative Bacteria: *Enterobacteriaceae*.**  
*Am J Med* 2006; 119 Suppl. 1: 20-8.
38. Strahilevitz J, Jacoby GA, Hooper DC, Robicsek A.  
**Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat.**  
*Clin Microbiol Rev.* 2009; 22:664-89.
39. Zhou Y, Yu H, Guo Q, Xu X, Ye X, Wu S, Guo Y, Wang M.  
**Distribution of 16S rRNA methylases among different species of Gram-negative bacilli with high-level resistance to aminoglycosides.**  
*Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010; doi: 10.1007/s10096-010-1004-1.
40. Jacoby GA.  
**AmpC beta-lactamases.**  
*Clin Microbiol Rev.* 2009; 22:161-82.
41. Poirel L, Pitout JD, Nordmann P.  
**Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences.**  
*Future Microbiol* 2007; 2:501-12.
42. Cattoir V, Nordmann P.  
**Plasmid-mediated quinolone resistance in gram-negative bacterial species: an update.**  
*Curr Med Chem* 2009; 16:1028-46.
43. Doi Y, Arakawa Y.  
**16S ribosomal RNA methylation: emerging resistance mechanism against aminoglycosides.**  
*Clin Infect Dis* 2007; 45: 88-94.
44. Angel-Díaz M, Ramón Hernández J, Martínez-Martínez L, Rodríguez-Baño J, Pascual A; Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH).  
***Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productoras de beta-lactamasas de espectro extendido en hospitales españoles: segundo estudio multicéntrico (proyecto GEIH-BLEE 2006).**  
*Enferm Infecc Microbiol Clin* 2009; 27:503-10.

45. EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) **HYPERLINK** "<http://www.riv.nl/earss>" *www.riv.nl/earss*
46. Asensio A, Cantón R, Vaqué J, Rosselló J, Calbo F, García-Caballero J, Domínguez V, Hernández A, Trilla A, Epine Working Group. **Nosocomial and community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in hospitalized patients (Spain, 1993-2003).** *J Hosp Infect.* 2006; 63:465-71.
47. Estudio de Prevalencia de las Infecciones Nosocomiales en España (EPINE). <http://www.sempspn.com/sempspn/index.php>
48. Valverde A, Coque TM, Sánchez-Moreno MP, Rollán A, Baquero F, Cantón R. **Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during nonoutbreak situations in Spain.** *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 4769-75.
49. Oteo J, Pérez-Vázquez M, Campos J. **Extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact.** *Curr Opin Infect Dis.* 2010; 23:320-6.
50. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, Walsh TR. **Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India.** *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:5046-54.
51. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Detection of *Enterobacteriaceae* isolates carrying metallo-beta-lactamase - United States, 2010.** *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010; 59:750.
52. Tato M, Coque TM, Ruíz-Garbajosa P, Pintado V, Cobo J, Sader HS, Jones RN, Baquero F, Cantón R. **Complex clonal and plasmid epidemiology in the first outbreak of *Enterobacteriaceae* infection involving VIM-1 metallo-beta-lactamase in Spain: toward endemicity?** *Clin Infect Dis.* 2007; 45:1171-8.
53. Miró E, Segura C, Navarro F, Sorlí L, Coll P, Horcajada JP, Alvarez-Lerma F, Salvadó M. **Spread of plasmids containing the blaVIM-1 and blaCTX-M genes and the qnr determinant in *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* isolates.** *Antimicrob Chemother* 2010; 65:661-5.
54. Ruiz E, Rojo-Bezares B, Sáenz Y, Olarte I, Esteban I, Rocha-Gracia R, Zarazaga M, Torres C. **Outbreak caused by a multi-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain of new sequence type ST341 carrying new genetic environments of aac(6)-Ib-cr and qnrS1 genes in a neonatal intensive care unit in Spain.** *Int J Med Microbiol.* 2010. doi:10.1016/j.ijmm.2010.04.014.
55. Morosini MI, García-Castillo M, Coque TM, Valverde A, Novais A, Loza E, Baquero F, Cantón R. **Antibiotic coresistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and in vitro activity of tigecycline.** *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:2695-9.
56. Curiao T, Morosini MI, Ruiz-Garbajosa P, Robustillo A, Baquero F, Coque TM, Cantón R. **Emergence of blaKPC-3-Tn4401a associated with a pKPN3/4-like plasmid within ST384 and ST388 *Klebsiella pneumoniae* clones in Spain.** *J Antimicrob Chemother.* 2010; doi:10.1093/jac/dkq174.
57. Cantón R, Oliver A, Coque TM, Varela Mdel C, Pérez-Díaz JC, Baquero F. **Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacter* isolates in a Spanish hospital during a 12-year period.** *J Clin Microbiol* 2002; 40:1237-43.
58. Novais A, Baquero F, Machado E, Cantón R, Peixe L, Coque TM. **International spread and persistence of TEM-24 is caused by the confluence of highly penetrating enterobacteriaceae clones and an IncA/C2 plasmid containing Tn1696:Tn1 and IS5075-Tn21.** *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:825-34.
59. Cano ME, Rodríguez-Martínez JM, Agüero J, Pascual A, Calvo J, García-Lobo JM, Velasco C, Francia MV, Martínez-Martínez L. **Detection of plasmid-mediated quinolone resistance genes in clinical isolates of *Enterobacter* spp. in Spain.** *J Clin Microbiol.* 2009; 47:2033-9.
60. Mc Gowan J.E. **Resistance in nonfermenting Gram-Negative bacteria: Multidrug resistance to the maximum.** *Am J Med* 2006; 119 Suppl. 1: 29-36.
61. Tato M, Valverde A, Coque TM, Cantón R. **PER-1 multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strain in Spain.** *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2006;24:472-3.
62. Picazo JJ, Betriu C, Rodríguez-Avil I, Culebras E, Gómez M, López F; Grupo VIRA. **Antimicrobial resistance surveillance: VIRA STUDY 2006.** *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24:617-28.
63. Gutiérrez O, Juan C, Cercenado E, Navarro F, Bouza E, Coll P, Pérez JL, Oliver A. **Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from Spanish hospitals.** *Antimicrob Agents Chemother.* 2007, 51:4329-35.
64. Rodríguez MC, Ruiz del Castillo B, Rodríguez-Mirones C, Romo M, Monteagudo I, Martínez-Martínez L. **Caracterización molecular de aislados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* productores de la metalobetalactamasa VIM-2 en Cantabria, España.** *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28:99-103.
65. Vila J, Marco F. **Interpretive reading of the non-fermenting gram-negative bacilli antibiogram.** *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2010 doi:10.1016/j.eimc.2010.05.001.
66. Fernández-Cuenca F, Pascual A, Ribera A, Vila J, Bou G, Cisneros JM, Rodríguez-Baño J, Pachón J, Martínez-Martínez L; Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria. **Clonal diversity and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* isolated in Spain.** *A nationwide multicenter study: GEIH-Ab project (2000).* *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22:267-71.
67. Ruiz M, Marti S, Fernandez-Cuenca F, Pascual A, Vila J. **High prevalence of carbapenem-hydrolyzing oxacillinases in epidemiologically related and unrelated *Acinetobacter baumannii* clinical isolates in Spain.** *Clin Microbiol Infect* 2007; 13:1192-8.
68. Peleg AY, Potoski BA, Rea R, Adams J, Sethi J, Capitano B, Husain S, Kwak EJ, Bhat SV, Paterson DL. ***Acinetobacter baumannii* bloodstream infection while receiving tigecycline: a cautionary report.** *J Antimicrob Chemother.* 2007; 59:128-31.
69. Poirel L, Rodríguez-Martínez JM, Plésiat P, Nordmann P. **Naturally occurring Class A ss-lactamases from the *Burkholderia cepacia* complex.** *Antimicrob Agents Chemother.* 2009; 53: 876-82.
70. Rice LB. **Antimicrobial resistance in gram-positive bacteria.** *Am J Med.* 2006; 119 Suppl. 1: 11-9.
71. Paradisi F, Corti G, Cinelli R. ***Streptococcus pneumoniae* as an agent of nosocomial infection: treatment in the era of penicillin-resistant strains.** *Clin Microbiol Infect.* 2001;7 (Suppl 4):34-42.
72. Deurenberg RH, Stobberingh EE. **The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** *Curr Mol Med* 2009; 9:100-15.
73. Deleo FR, Otto M, Kreiswirth BN, Chambers HF. **Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** *Lancet* 2010; 375:1557-68.
74. Cercenado E, Ruiz de Gopegui E. **Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.** *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26 (Suppl 13):19-24.
75. Cuevas O, Cercenado E, Goyanes MJ, Vindel A, Trincado P, Boquete T, Marín M, Bouza E; Grupo Español para el Estudio de Estafilococo. ***Staphylococcus* spp. in Spain: present situation and evolution of antimicrobial resistance (1986-2006).** *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; 26:269-77.
76. Vindel A, Cuevas O, Cercenado E, Marcos C, Bautista V, Castellares C, Trincado P, Boquete T, Pérez-Vázquez M, Marín M, Bouza E; Spanish Group for the Study of Staphylococcus. **Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: molecular epidemiology and utility of different typing methods.** *J Clin Microbiol.* 2009; 47:1620-7.
77. Aspiroz C, Lozano C, Vindel A, Lasarte JJ, Zarazaga M, Torres C. **Skin lesion caused by ST398 and ST1 MRSA, Spain.** *Emerg Infect Dis.* 2010; 16:157-9.
78. Soriano A, Marco F, Martínez JA, Pisos E, Almela M, Dimova VP, Alamo D, Ortega M, Lopez J, Mensa. **Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia.** *J. Clin Infect Dis.* 2008; 46:193-200.

79. Picazo JJ, Betriu C, Culebras E, Rodríguez-Avial I, Gómez M, López F; VIRA Study Group.  
**Activity of daptomycin against staphylococci collected from bloodstream infections in Spanish medical centers.**  
*Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009; 64:448-51.
80. Nannini E, Murray BE, Arias CA.  
**Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin, and linezolid in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*.**  
*Curr Opin Pharmacol.* 2010 Jun 30. [Epub ahead of print]
81. Morales G, Picazo JJ, Baos E, Candel FJ, Arribi A, Peláez B, Andrade R, de la Torre MA, Fereres J, Sánchez-García M.  
**Resistance to linezolid is mediated by the cfr gene in the first report of an outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus*.**  
*Clin Infect Dis.* 2010; 50:821-5.
82. Kehrenberg C, Schwarz S, Jacobsen L, Hansen LH, Vester B.  
**A new mechanism for chloramphenicol, florfenicol and clindamycin resistance: methylation of 23S ribosomal RNA at A2503.**  
*Mol Microbiol* 2005; 57:1064-73.
83. Biavasco F, Vignaroli C, Varaldo PE.  
**Glycopeptide resistance in coagulase-negative staphylococci.**  
*Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19:403-17.
84. Rodríguez-Aranda A, Daskalaki M, Villar J, Sanz F, Otero JR, Chaves F.  
**Nosocomial spread of linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* infections in an intensive care unit.**  
*Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 63:398-402.
85. Treviño M, Martínez-Lamas L, Romero-Jung PA, Giráldez JM, Álvarez-Escudero J, Regueiro BJ.  
**Endemic linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in a critical care unit.**  
*Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28:527-33.
86. Sorlozano A, Gutierrez J, Martinez T, Yuste ME, Perez-Lopez JA, Vindel A, Guillen J, Boquete T.  
**Detection of new mutations conferring resistance to linezolid in glycopeptide-intermediate susceptibility *Staphylococcus hominis* subspecies *hominis* circulating in an intensive care unit.**  
*Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2010; 29:73-80.
87. Fortún J, Coque TM, Martín-Dávila P, Moreno L, Cantón R, Loza E, Baquero F, Moreno S.  
**Risk factors associated with ampicillin resistance in patients with bacteraemia caused by *Enterococcus faecium*.**  
*J Antimicrob Chemother* 2002; 50:1003-9.
88. Coque TM, Willems RJ, Fortún J, Top J, Diz S, Loza E, Cantón R, Baquero F.  
**Population structure of *Enterococcus faecium* causing bacteremia in a Spanish university hospital: setting the scene for a future increase in vancomycin resistance?**  
*Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:2693-700.
89. Ruiz-Garbajosa P, Bonten MJ, Robinson DA, Top J, Nallapareddy SR, Torres C, Coque TM, Cantón R, Baquero F, Murray BE, del Campo R, Willems RJ.  
**Multilocus sequence typing scheme for *Enterococcus faecalis* reveals hospital-adapted genetic complexes in a background of high rates of recombination.**  
*J Clin Microbiol* 2006; 44:2220-8.
90. Ruiz-Garbajosa P, Coque TM, Cantón R, Willems RJ, Baquero F, Del Campo R.  
**High-risk clonal complexes CC2 and CC9 are widely distributed among *Enterococcus faecalis* hospital isolates recovered in Spain.**  
*Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007; 25:513-8.
91. Leclercq R.  
**Enterococci acquire new kinds of resistance.**  
*Clin Infect Dis.* 1997; 24 (Suppl 1):S80-4.
92. Leclercq R.  
**Epidemiological and resistance issues in multidrug-resistant staphylococci and enterococci.**  
*Clin Microbiol Infect.* 2009; 15:224-31.