



REVISTA ESPAÑOLA DE
Quimioterapia

SPANISH JOURNAL
OF CHEMOTHERAPY

ISSN: 0214-3429

Volumen 28

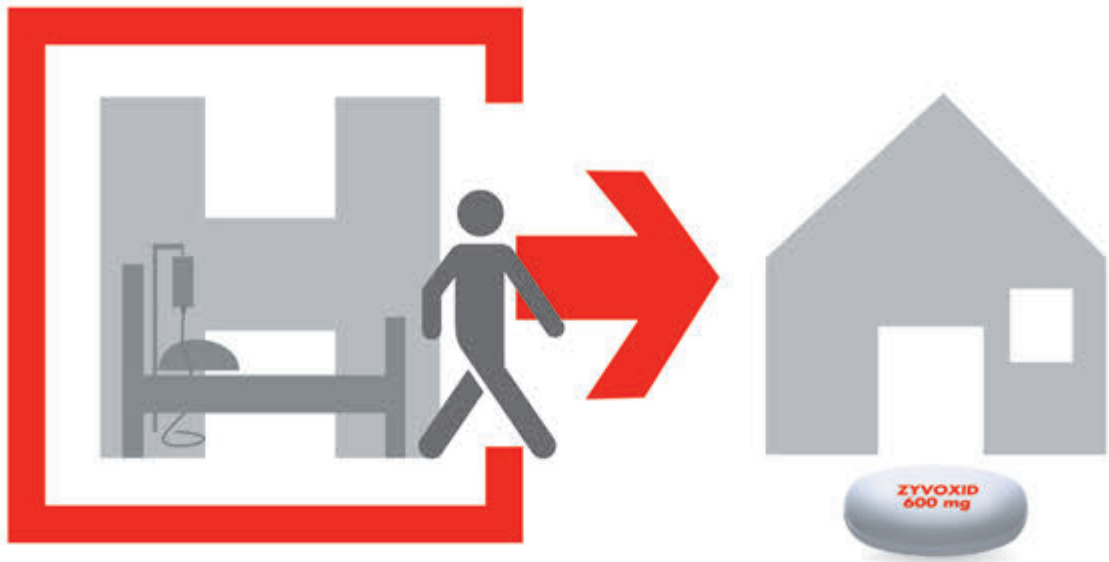
Número 2

Abril 2015

Páginas: 61-115



Publicación Oficial
de la Sociedad Española
de Quimioterapia



La libertad de la terapia secuencial

- ➔ Biodisponibilidad oral del 100%¹
- ➔ Permite la terapia secuencial **de vía intravenosa a vía oral**, sin cambiar la dosificación y sin cambiar de medicamento²

IV/Oral
ZYVOXID[®]
(linezolid)



Trabajando juntos por un mundo más sano

IV/Oral

ZYVOXID®

(linezolid)

NOMBRE DEL MEDICAMENTO: Zyvoxid 600 mg comprimidos recubiertos con película. Zyvoxid 100 mg/5 ml granulado para suspensión oral. Zyvoxid 2 mg/ml solución para perfusión. **COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA:**

Comprimidos recubiertos con película: Cada comprimido contiene 600 mg de linezolid. Granulado para suspensión oral: Cada 5 ml contienen 100 mg de linezolid, tras su reconstitución con 123 ml de agua. Solución para perfusión: Cada ml contiene 2 mg de linezolid. Cada bolsa de perfusión de 300 ml contiene 600 mg de linezolid. Para consultar la lista de excipientes, ver lista de excipientes. **FORMA FARMACÉUTICA:** Comprimidos recubiertos con película: Comprimidos blancos, ovales con "ZYVOXID 600 mg" impreso en una cara. Granulado para suspensión oral: Granulado blanco o amarillo pálido con sabor a naranja. Polvo para solución para perfusión: Solución para perfusión. Solución isotónica, transparente, de incolora a amarilla. **DATOS CLÍNICOS: Indicaciones terapéuticas:** Neumonía nosocomial. Neumonía adquirida en la comunidad. Zyvoxid está indicado para el tratamiento de la neumonía nosocomial y de la neumonía adquirida en la comunidad, cuando se tenga la certeza o se sospeche que estén causadas por bacterias grampositivas sensibles a linezolid. Para determinar si Zyvoxid es un tratamiento adecuado, deben tenerse en cuenta los resultados de las pruebas microbiológicas o la prevalencia de resistencia entre las bacterias grampositivas a los antibióticos. Linezolid no es activo frente a infecciones causadas por microorganismos gramnegativos. Si se sospecha o se tiene la certeza de que existe una infección por microorganismos gramnegativos, se debe iniciar simultáneamente un tratamiento específico frente a microorganismos gramnegativos. Infecciones complicadas de piel y tejidos blandos (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Zyvoxid está indicado para el tratamiento de infecciones complicadas de piel y tejidos blandos sólo cuando las pruebas microbiológicas muestren que la infección está originada por bacterias grampositivas sensibles a este antibiótico. Linezolid no es activo frente a infecciones causadas por microorganismos gramnegativos. Linezolid sólo debe ser usado en pacientes con infecciones complicadas de piel y tejidos blandos en los que se sospeche o se tenga la certeza de co-infección por microorganismos gramnegativos, si no hay otras alternativas terapéuticas disponibles (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). En estas circunstancias, debe iniciarse concomitantemente tratamiento frente a microorganismos gramnegativos. El tratamiento con linezolid debe iniciarse únicamente en el ámbito hospitalario y tras la valoración por un médico especialista, como un microbiólogo o un especialista en enfermedades infecciosas. Deberán tenerse en cuenta las recomendaciones oficiales sobre el uso adecuado de agentes antibacterianos. **Posología y forma de administración:** Para iniciar el tratamiento con Zyvoxid se puede utilizar tanto la solución para perfusión como los comprimidos recubiertos con película o la suspensión oral. Los pacientes que inicien el tratamiento con la formulación parenteral pueden pasar a cualquiera de las presentaciones orales, cuando esté indicado clínicamente. En este caso no se requiere ajuste de dosis, ya que la biodisponibilidad oral de linezolid es aproximadamente del 100%. **Duración y dosificación recomendada para el tratamiento en adultos:** La duración del tratamiento depende del microorganismo, del lugar de la infección, de la gravedad y de la respuesta clínica del paciente. Las recomendaciones sobre la duración del tratamiento que se indican a continuación reflejan las utilizadas en los ensayos clínicos. Para algunos tipos de infección, puede ser conveniente prescribir tratamientos más cortos, aunque esto no se ha evaluado en ensayos clínicos. La duración máxima del tratamiento es de 28 días. No se ha establecido la seguridad y eficacia de linezolid cuando se administra durante períodos superiores a 28 días (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Las infecciones asociadas a bacteriemia no requieren aumentar la dosis recomendada ni la duración del tratamiento. Las dosis recomendadas son idénticas para la solución para perfusión, los comprimidos y el granulado para suspensión oral y son las siguientes: (ver tabla) **Niños:** Los datos de seguridad y de eficacia de linezolid en niños y adolescentes (<18 años edad) son insuficientes para establecer recomendaciones de dosis. Por consiguiente, no se recomienda el uso de linezolid en este grupo de edad hasta que se disponga de más datos. **Anclanos:** No se requiere ajuste de dosis. **Pacientes con insuficiencia renal:** No se requiere ajuste de dosis (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). **Pacientes con insuficiencia renal grave (es decir, $Cl_{cr} < 30$ ml/min):** No se requiere un ajuste de dosis en estos pacientes. Ya que se desconoce la relevancia clínica que tiene la exposición de estos pacientes a concentraciones altas (hasta 10 veces) de los dos metabolitos principales de linezolid, este medicamento se utilizará con especial precaución en los pacientes con insuficiencia renal grave y se administrará únicamente si el beneficio esperado supera el posible riesgo. Dado que aproximadamente un

Infecciones	Dosis	Duración del tratamiento
Neumonía nosocomial Neumonía adquirida en la comunidad Infecciones complicadas de piel y tejidos blandos	600 mg 2 veces al día	10-14 días consecutivos

30% de la dosis de linezolid se elimina durante 3 horas de hemodíalisis, linezolid se administrará después de la diálisis en los pacientes que reciben dicho tratamiento. Los metabolitos principales de linezolid se eliminan en parte por la hemodíalisis, pero las concentraciones de sus metabolitos son considerablemente más elevadas tras la diálisis que las que se observan en pacientes con función renal normal o insuficiencia renal leve o moderada. Por tanto, linezolid se utilizará con especial precaución en pacientes con insuficiencia renal grave sometidos a diálisis y solamente si el beneficio esperado supera el posible riesgo. Hasta el momento, no hay experiencia en la administración de linezolid con pacientes en diálisis peritoneal ambulatoria continua (DPAC) o tratamientos alternativos para la insuficiencia renal (diferentes de la hemodíalisis). **Pacientes con insuficiencia hepática:** No se requiere ajustar la dosis. Sin embargo, debido a que la experiencia clínica en estos pacientes es limitada, se recomienda utilizar linezolid solamente si el beneficio esperado supera el posible riesgo (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). **Forma de administración:** La dosis recomendada de linezolid se debe administrar por vía intravenosa u oral dos veces al día. Vía de administración oral: Los comprimidos recubiertos con película pueden tomarse con o sin alimentos. La suspensión oral puede tomarse con o sin alimentos. 30 ml de suspensión reconstituida (es decir, seis cucharadas de 5 ml) corresponden a una dosis de 600 mg. Vía de administración intravenosa: La solución para perfusión se debe administrar durante un periodo de 30 a 120 minutos.

Contraindicaciones: Hipersensibilidad a linezolid o a alguno de los excipientes (Lista de excipientes). Linezolid no debe usarse en pacientes que estén tomando medicamentos que inhiban las monoaminoxidases A o B (p.ej. fenelzina, isocarboxazida, selegilina, moclobemida) ni durante las dos semanas siguientes a la toma de dicha medicación. A menos que se disponga de los medios necesarios para realizar un estrecho control y monitorización de la tensión arterial, linezolid no se administrará a pacientes con las siguientes condiciones clínicas basales o que estén en tratamiento con los siguientes medicamentos: - Pacientes con hipertensión no controlada, feocromocitoma, síndrome carcinóide, tirototoxicosis, trastorno bipolar, alteraciones psicoefectivas, estado confusional agudo. - Pacientes que tomen cualquiera de estos medicamentos: inhibidores de la recaptación de serotonina, antidepresivos tricíclicos, agonistas del receptor 5-HT₂ de serotonina (triptanos), simpaticomiméticos de acción directa o indirecta (incluyendo broncodilatadores adrenérgicos, pseudoefedrina y fenilpropanolamina), vasopresores (p.ej. epinefrina, norepinefrina), fármacos dopaminérgicos (p.ej. dopamina, dobutamina), pedina o buspirona. Los datos de los estudios en animales sugieren que linezolid y sus metabolitos pueden pasar a la leche materna, por lo que la lactancia debe interrumpirse antes y durante la administración del tratamiento (Embarazo y lactancia). **Advertencias y precauciones especiales de empleo:** Linezolid es un inhibidor reversible y no selectivo de la monoaminoxidasa (MAO); sin embargo, no ejerce ningún efecto antidepresivo a las dosis empleadas para el tratamiento antibacteriano. Apenas se dispone de datos de estudios de interacciones farmacológicas y de seguridad de linezolid sobre el riesgo de inhibición de la MAO en pacientes que reciben linezolid y presentan patologías subyacentes y/o reciben tratamiento concomitante con fármacos que incrementan este riesgo. Por ello, no se recomienda utilizar linezolid en dichas circunstancias, a menos que sea posible una estrecha observación y monitorización del paciente (ver Contraindicaciones e Interacciones con otros medicamentos y otras formas de interacción). Debe advertirse a los pacientes que no consuman grandes cantidades de alimentos ricos en tiramina (ver Interacciones con otros medicamentos y otras formas de interacción). La suspensión oral reconstituida contiene una fuente de fenilalanina (aspartamo) equivalente a 20 mg por cada 5 ml de suspensión. Por tanto, esta formulación puede ser perjudicial para pacientes con fenilcetonuria. La suspensión contiene también sacarosa, manitol y 1,7 mg/ml de sodio. Por tanto, los pacientes con intolerancia hereditaria a la fructosa, malabsorción de glucosa-galactosa o insuficiencia de sacarosa-isomaltasa, no deben tomar este medicamento. La suspensión oral contiene manitol, lo que puede tener un ligero efecto laxante. La suspensión oral contiene 8,5 mg de sodio por cada 5 ml, lo que debe ser tenido en cuenta en pacientes con dietas pobres en sodio. Se han notificado casos de mielosupresión (incluyendo anemia, leucopenia, trombocitopenia y pancitopenia) en pacientes tratados con linezolid. En los pacientes en los que se realizó seguimiento, se ha visto que los parámetros hematológicos se normalizan cuando se interrumpe el tratamiento. El riesgo de estos efectos parece asociarse con la duración del tratamiento. La trombocitopenia puede presentarse con más frecuencia en pacientes con insuficiencia renal grave, sometidos o no a diálisis. Por lo tanto, se recomienda realizar un estrecho control del hemograma en pacientes con: anemia previa, granulocitopenia o trombocitopenia; que reciban medicación concomitante que pueda disminuir los niveles de hemoglobina y el recuento de hematíes o afecte de forma adversa el recuento o la función plaquetaria; que presenten insuficiencia renal grave; o que reciban más de 10-14 días de tratamiento. Linezolid debe administrarse únicamente a aquellos pacientes en los que se pueda realizar un estrecho control de los niveles de hemoglobina, recuento sanguíneo y de plaquetas. Si durante el tratamiento con linezolid se produce mielosupresión grave debe interrumpirse el tratamiento, a menos que la continuación del mismo se considere absolutamente necesaria, en cuyo caso, se realizará un seguimiento exhaustivo de los parámetros hematológicos y se deben implantar las medidas terapéuticas apropiadas. Se recomienda además, un hemograma completo semanal (incluyendo hemoglobina, plaquetas, recuento leucocitario absoluto y fórmula) a los pacientes que reciban linezolid, independientemente de su hemograma basal. En estudios de uso compasivo, se notificó una mayor incidencia de anemia grave en pacientes que estaban siendo tratados con linezolid durante periodos de tiempo superiores a la duración máxima de tratamiento recomendada de 28 días. Estos pacientes requirieron con mayor frecuencia transfusión sanguínea. También se han notificado durante la experiencia post-comercialización casos de anemia que requirieron transfusión sanguínea, siendo mayor el número de casos en los pacientes que recibieron linezolid durante más de 28 días. Se han notificado casos de acidosis láctica con el uso de linezolid. Los pacientes que desarrollen signos o síntomas de acidosis metabólica (incluyendo náuseas o vómitos recurrentes, dolor abdominal, nivel bajo de bicarbonato o hiperventilación mientras están siendo tratados con linezolid deben recibir atención médica inmediata. En un estudio abierto en pacientes graves con infecciones vasculares relacionadas con catéter se observó un exceso de mortalidad en los pacientes tratados con linezolid frente a aquellos tratados con vancomicina/dicloxacilina/oxacilina [78/363 (21,5%) frente a 58/363 (16,0%)]. El principal factor que influyó en la tasa de mortalidad fue el estatus basal de infección por grampositivos. Las tasas de mortalidad fueron similares en los pacientes con infecciones causadas exclusivamente por microorganismos grampositivos (odds ratio 0,96; IC 95%: 0,58-1,59), pero fue significativamente superior (p = 0,0162) en el brazo de linezolid para los pacientes infectados con cualquier otro microorganismo o en los que no se aisló ningún microorganismo basal (odds ratio 2,48; IC 95%: 1,38-4,46). El mayor desequilibrio ocurrió durante el tratamiento y dentro de los 7 días siguientes a la interrupción del fármaco en estudio. En el brazo de linezolid, hubo más pacientes que adquirieron infecciones por microorganismos gramnegativos durante el estudio y que fallecieron por infecciones causadas por microorganismo gramnegativos y por infecciones polimicrobianas. Por lo tanto, linezolid sólo debe ser usado en pacientes con infecciones complicadas de piel y tejidos blandos en los que se sospeche o se tenga la certeza que tienen una co-infección por microorganismos gramnegativos si no hay otros tratamientos alternativos disponibles (ver Indicaciones terapéuticas). En estas circunstancias, debe iniciarse tratamiento concomitante frente a microorganismos gramnegativos. Los ensayos clínicos controlados no incluyeron pacientes con lesiones de pie diabético, úlceras de decúbito, lesiones isquémicas, quemaduras graves o gangrena. Por consiguiente, se posee una experiencia limitada de la utilización de linezolid en el tratamiento de estas patologías. Linezolid se debe usar con especial precaución en pacientes con insuficiencia renal grave, únicamente si el beneficio esperado se considera superior al posible riesgo (ver Posología y forma de administración). Se recomienda que linezolid se administre a pacientes con insuficiencia hepática grave sólo si se considera que el beneficio esperado supera el posible riesgo (ver Posología y forma de administración).

Se han notificado casos de colitis pseudomembranosa con casi todos los antibacterianos, incluyendo linezolid. Por tanto, es importante tener en cuenta este diagnóstico en pacientes que presenten diarrea tras la administración de cualquier antibacteriano. Si se sospecha o confirma una colitis asociada al antibiótico, puede estar justificado interrumpir el linezolid y se deben tomar las medidas oportunas. No se han evaluado en ensayos clínicos los efectos del tratamiento con linezolid sobre la flora normal. Ocasionalmente, el uso de antibióticos puede producir el sobrecrecimiento de microorganismos no sensibles. Aproximadamente el 3% de los pacientes que recibieron linezolid a las dosis recomendadas durante los ensayos clínicos, presentan candidiasis asociada al tratamiento. En casos de sobreinfección durante el tratamiento, se deben tomar las medidas adecuadas. No se ha establecido la seguridad ni la eficacia de linezolid cuando se administra más de 28 días. Se han notificado casos de neuropatía óptica y periférica, que en ocasiones progresa hasta la pérdida de la visión en pacientes tratados con Zyvoxid; estos casos han ocurrido fundamentalmente en pacientes tratados durante períodos superiores a la duración máxima recomendada de 28 días. Se debe advertir a todos los pacientes que comuniquen síntomas de alteración visual, tales como cambios en la agudeza visual, cambios en la visión de los colores, visión borrosa o defectos en el campo visual. En tales casos, se recomienda evaluar la función visual lo antes posible y debe consultarse al oftalmólogo si fuera necesario. La función visual debe ser monitorizada regularmente, en cualquier paciente tratado con Zyvoxid por un periodo superior a los 28 días recomendados. La continuación del tratamiento con Zyvoxid en pacientes que han sufrido neuropatía óptica o periférica, debe ser valorada frente a los posibles riesgos. Se han notificado casos de convulsiones en pacientes tratados con Zyvoxid. En la mayoría de estos casos, se notificó un historial previo de convulsiones o de factores de riesgo para las mismas. Se debe aconsejar a los pacientes que informen a su médico si tienen antecedentes de convulsiones. En los estudios realizados en ratas adultas macho con niveles de exposición a linezolid similares a los esperados en humanos, se observó una disminución reversible de la fertilidad y una morfología espermática anómala. Se desconocen los posibles efectos de linezolid sobre el sistema reproductor masculino humano. **Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción:** Linezolid es un inhibidor reversible no selectivo de la monoaminoxidasa (MAO). Los datos de los estudios de interacción farmacológica y de seguridad de linezolid administrado a pacientes sometidos a tratamientos concomitantes con riesgo de inhibición de la MAO son muy limitados. Por lo tanto, no se recomienda utilizar linezolid en estas circunstancias, a menos que se realice una estrecha observación y control del paciente (ver Contraindicaciones). Linezolid aumentó el efecto hipertensivo producido por la pseudoefedrina y el hidrocloreto de fenilpropanolamina en voluntarios sanos normotensos. La administración simultánea de linezolid con pseudoefedrina o hidrocloreto de fenilpropanolamina produjo incrementos medios de la tensión arterial sistólica del orden de 30-40 mmHg, comparados con los 11-15 mmHg que produce linezolid solo, los 14-18 mmHg que produce la pseudoefedrina o la fenilpropanolamina solas y los 8-11 mmHg que produce el placebo. No se han realizado estudios similares en pacientes hipertensos. Se recomienda que si se administra linezolid con fármacos con efectos vasopresores (incluyendo agentes dopaminérgicos), se titulen las dosis de éstos cuidadosamente hasta alcanzar la respuesta deseada. En voluntarios sanos, se estudió el potencial de interacción farmacológica de linezolid con dextrometorfano. Se administraron dos dosis de 20 mg de dextrometorfano con una diferencia de 4 horas, con o sin linezolid. En los sujetos sanos que recibieron linezolid y dextrometorfano no se observaron efectos del síndrome serotoninérgico (confusión, delirio, inquietud, temblor, rubor, diaforesis, hiperreflexia). Durante la experiencia post-comercialización: se ha notificado el caso de un paciente que experimentaba síntomas similares a los del síndrome serotoninérgico, durante la toma de linezolid y dextrometorfano, que se resolvieron con la interrupción de ambos tratamientos. Se han comunicado muy raramente casos de síndrome serotoninérgico, durante el uso clínico conjunto de linezolid con inhibidores de la recaptación de la serotonina, (ver Contraindicaciones y Reacciones adversas). No se observó una respuesta presora significativa en los sujetos que

recibieron linezolid y menos de 100 mg de tiramina. Esto sugiere que sólo es necesario evitar la ingesta de cantidades excesivas de alimentos o bebidas de alto contenido en tiramina (p.ej. queso curado, extractos de levadura, bebidas alcohólicas no destiladas y productos de soja fermentada como salsa de soja). Linezolid no es metabolizado de forma detectable por el sistema enzimático del citocromo P450 (CYP) ni inhibe ninguna de las isoforras humanas de CYP clínicamente significativas (1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 y 3A4). De forma similar, linezolid no induce las isoenzimas P450 en ratas. Por tanto, no se esperan interacciones farmacológicas inducidas por CYP450 con linezolid. La administración simultánea de warfarina y linezolid (en estado estacionario), produjo una reducción del 10% del INR (International Normalized Ratio) máximo medio y una disminución del 5% del AUC del INR. Los datos procedentes de pacientes que han recibido warfarina y linezolid son insuficientes para evaluar la relevancia clínica, si existe, de estos hallazgos. **Embarazo y lactancia:** No se dispone de datos suficientes sobre el uso de linezolid en mujeres embarazadas. Los estudios en animales han mostrado toxicidad reproductiva. Existe un riesgo potencial en humanos. Linezolid no debe utilizarse durante el embarazo, a menos que sea claramente necesario. Es decir, solamente si el beneficio potencial supera al posible riesgo. Los datos de animales sugieren que linezolid y sus metabolitos pueden pasar a la leche materna por lo que la lactancia debe interrumpirse antes y durante todo el tratamiento. **Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas:** Se debe advertir a los pacientes que pueden presentar mareos mientras reciben linezolid, y se les debe aconsejar no conducir ni utilizar maquinaria en estos casos. **Reacciones adversas:** La información presentada se basa en los datos obtenidos de los ensayos clínicos en los que más de 2.000 pacientes adultos recibieron las dosis recomendadas de linezolid hasta un máximo de 28 días. Aproximadamente un 22% de los pacientes experimentó reacciones adversas; las notificadas con mayor frecuencia fueron diarrea (4,2%), náuseas (3,3%), cefalea (2,1%) y candidiasis (principalmente oral (0,8%) y vaginal (1,1%), ver tabla a continuación). Las reacciones adversas relacionadas con el fármaco notificadas con más frecuencia y que obligaron a interrumpir el tratamiento fueron cefalea, diarrea, náuseas y vómitos. Alrededor de un 3% de los pacientes dejaron el tratamiento por presentar una reacción adversa relacionada con el fármaco. Las siguientes reacciones adversas a linezolid fueron consideradas graves en casos aislados: dolor abdominal localizado, accidentes isquémicos transitorios, hipertensión, pancreatitis e insuficiencia renal. Durante los ensayos clínicos, se notificó un único caso de arritmia (taquicardia) relacionado con el fármaco. En ensayos clínicos controlados en los que se administró linezolid durante periodos de hasta 28 días de tratamiento se notificó anemia en menos del 0,1% de los pacientes. En un programa de uso compasivo de pacientes con infecciones que supongan una amenaza para la vida y con co-morbilidades subyacentes, el porcentaje de pacientes que desarrollaron anemia cuando recibieron linezolid \leq 28 días fue del 2,5% (33/1.326) comparado con el 12,3% (53/430) cuando fueron tratados durante $>$ 28 días. La proporción de casos notificados de anemia grave relacionados con la medicación y que requirieron transfusión sanguínea fue del 9% (3/33) en pacientes tratados \leq 28 días y del 15% (8/53) en aquellos tratados durante más de 28 días. **Experiencia post-comercialización:** Trastornos de la sangre y del sistema linfático: Anemia, leucopenia, neutropenia, trombocitopenia, pancitopenia, y mielosupresión (ver sección 4.4). Entre los casos de anemia notificados, hubo más pacientes que requirieron transfusión sanguínea cuando fueron tratados con linezolid durante periodos de tiempo superiores a la duración máxima de tratamiento recomendada de 28 días (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Trastornos del sistema inmunológico: Anafilaxia. Trastornos del metabolismo y de la nutrición: Acidosis láctica (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Trastornos del sistema nervioso: neuropatía periférica, convulsiones, síndrome serotoninérgico. Se han notificado casos de neuropatía periférica en pacientes tratados con Zyvoxid. Estos casos han ocurrido principalmente en pacientes tratados durante periodos de tiempo que superan la duración máxima recomendada de 28 días (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Se han notificado casos de convulsiones en pacientes tratados con Zyvoxid. En la mayoría de estos casos se ha confirmado un historial previo de convulsiones o de factores de riesgo para las mismas (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Se han notificado casos de síndrome serotoninérgico (ver Contraindicaciones e Interacciones con otros medicamentos y otras formas de interacción). Trastornos oculares: neuropatía óptica: Se han notificado casos de neuropatía óptica, que en ocasiones evoluciona hasta la pérdida de la visión, en pacientes tratados con Zyvoxid; estos casos se han desarrollado principalmente en pacientes tratados durante periodos de tiempo que superan la duración máxima de tratamiento recomendada de 28 días (ver Advertencias y precauciones especiales de empleo). Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo: Angioedema, se han recibido notificaciones de trastornos cutáneos, como los descritos en el síndrome de Stevens Johnson. **Sobredosis:** No se conoce un antídoto específico. No se han notificado casos de sobredosis. Sin embargo, la siguiente información puede ser útil: Se aconsejan instaurar medidas de soporte junto con el mantenimiento del filtrado glomerular. Aproximadamente el 30% de la dosis de linezolid se elimina durante 3 horas de hemodilísis, pero no se dispone de datos de eliminación de linezolid por diálisis peritoneal o hemoperfusión. Los dos metabolitos principales de linezolid también se eliminan en cierto grado por la hemodilísis. Los signos de toxicidad en ratas, tras la administración de 3.000 mg/Kg/día de linezolid, fueron disminución de la actividad y ataxia, mientras que los perros tratados con 2.000 mg/Kg/día presentaron vómitos y temblores. **DATOS FARMACÉUTICOS: Lista de excipientes:** Núcleo de los comprimidos: Celulosa microcristalina (E460), Almidón de maíz, Almidón de patata tipo A, Hidroxipropilcelulosa (E463), Estearato de magnesio (E572). Recubrimiento del comprimido: Hipromelosa (E464), Dióxido de titanio (E171), Macrogol 400, Cera carnuba (E903), Tinta roja, Óxido de hierro rojo (E172). Granulado para suspensión oral: Sacarosa, Manitol (E421), Celulosa microcristalina (E460), Carboximetilcelulosa sódica (E551), Aspartamo (E951), Sílice coloidal anhidra (E551), Citrato de sodio (E331), Goma de xantán (E415), Benzoato de sodio (E211), Ácido cítrico anhidrido (E330), Cloruro de sodio, Edulcorantes (fructosa, maltodextrina, glicirizinato monomacónico, sorbitol), Naranja, crema de naranja, aromas de menta y vainilla (acetoina, alfa tocoferoles acetaldéhidro, aldehído anisico, beta-carlofileno, ácido n-butírico, butil butiril lactato, decalactona delta, dimetil bencil carboacetato, etil alcohol, etil butirato, etil maltol, etil vainillina, furaneol, terpenos de uva, heliotropina, maltodextrina, almidón alimentario modificado, monometil succinato, aldehído de naranja, aceite de naranja FLA CP, aceite de naranja 2X Valencia, aceite de naranja 5X Valencia, aceite de esencia de naranja, carbonilos de zumo de naranja, terpenos de naranja, aceite esencial de menta, propilenglicol, aceite de mandarina, extracto de vainilla, vainillina, agua). Solución para perfusión: Glucosa monohidrato, Citrato de sodio (E331), Ácido cítrico anhidrido (E330), Ácido clorhídrico (E507), Hidróxido de sodio (E524). Agua para preparaciones inyectables. **Incompatibilidades:** Comprimidos y granulado para suspensión oral. No procede. Solución para perfusión: No deben añadirse aditivos en esta solución. Si linezolid se administra con otros fármacos simultáneamente, cada uno debe administrarse por separado de acuerdo con sus instrucciones de uso. De forma similar, si se utiliza la misma vía intravenosa para la perfusión intravenosa secuencial de varios fármacos, ésta debe lavarse antes y después de la administración de linezolid con una solución compatible (ver Instrucciones de uso y manipulación). Se sabe que Zyvoxid solución para perfusión físicamente no es compatible con los siguientes compuestos: amfetolérica B, hidrocloruro de clorpromacina, diazepam, isoniatol de pentamida, lactobionato de eritromicina, fentoina sódica y sulfametoxazol/trimetoprim. Además, químicamente no es compatible con ceftriaxona sódica. **Periodo de validez:** Zyvoxid 600 mg comprimidos recubiertos con película: 3 años. Zyvoxid 100 mg/5 ml granulado para suspensión oral: Antes de reconstituir: 2 años; Tras reconstituir: 3 semanas. Solución para perfusión: Antes de la apertura: 3 años. Tras la apertura: Desde un punto de vista microbiológico, a menos que el método de apertura excluya el riesgo de contaminación bacteriana, el producto debe utilizarse inmediatamente, de no ser así los tiempos y condiciones de conservación serán responsabilidad del usuario. **Precauciones especiales de conservación:** Comprimidos recubiertos con película: No requiere condiciones especiales de conservación. Granulado para suspensión oral: Antes de reconstituir: Mantener el frasco bien cerrado. Tras reconstituir: Mantener el frasco en el cartón que lo protege. Solución para perfusión: Almacenar en su envase original (embalaje y cartón) hasta su utilización. **Naturaleza y contenido del envase:** Comprimidos recubiertos con película: Frasco de HDPE blanco con tapón de rosca de polipropileno conteniendo 10*, 14*, 20*, 24, 30, 50 ó 60 comprimidos. Frasco de HDPE blanco con tapón de rosca de polipropileno conteniendo 100 comprimidos (Sólo para uso hospitalario). **Nota:** Los frascos anteriores también pueden suministrarse en envases hospitalarios de * 5 ó 10. Blisters de cloruro de polivinilo (PVC)/aluminio de 10 comprimidos envasados en caja. Cada caja contiene 10*, 20*, 30, 50 ó 60 comprimidos. Blisters de cloruro de polivinilo (PVC)/aluminio de 10 comprimidos envasados en caja. Cada caja contiene 100 comprimidos (Sólo para uso hospitalario). **Nota:** Los frascos anteriores también pueden suministrarse en envases hospitalarios de: * 5 ó 10. Granulado para suspensión oral: Frascos ámbar de cristal tipo III con un volumen nominal de 240 ml conteniendo 66 g de granulado para suspensión oral. Cada frasco lleva un tapón de rosca de seguridad para niños de polipropileno y se envasa en caja con una cuchara de medición de 2,5 / 5 ml. **Nota:** Los frascos anteriores también pueden suministrarse en envases hospitalarios de: * 5 ó 10. Solución para perfusión: Bolsas de perfusión intravenosa de uso único, listas para usar, sin látex, multicapa (capa interna: copolímero de etileno propileno y copolímero de estireno/etileno butileno/estireno; capa media: copolímero de estireno/etileno butileno/estireno; capa externa: copolímero) selladas, con una cubierta externa de aluminio laminado. La bolsa contiene 300 ml de solución y se presenta en una caja. Cada caja contiene 1*, 2*, 5, 10, 20 ó 25 bolsas de perfusión intravenosa. **Nota:** Las cajas anteriores también pueden suministrarse en envases hospitalarios de: * 5, 10 ó 20 y * 3, 6 ó 10. Puede que solamente estén comercializados algunos tamaños de envase. **Instrucciones de uso y manipulación:** Comprimidos recubiertos con película: Ninguna especial. Granulado para suspensión oral: Despegar el granulado y reconstituir utilizando 123 ml de agua en dos alícuotas aproximadamente iguales para obtener 150 ml de suspensión oral. La suspensión debe agitarse vigorosamente entre cada adición de agua. Antes de usar, invertir suavemente el frasco varias veces. No agitar. Solución para perfusión: Sólo para un único uso. Retirar el envoltorio externo solamente en el momento de su uso, comprobando si existen fugas menores apretando firmemente la bolsa. En caso

Reacciones adversas del fármaco con frecuencia \geq 0,1%	
Infecciones e infestaciones	
Frecuentes: Candidiasis (especialmente candidiasis oral y vaginal) o infección fúngica. Poco frecuentes: Vaginitis.	
Trastornos de la sangre y del sistema linfático	
Poco frecuentes: (frecuencia notificada por el personal sanitario) Eosinofilia, leucopenia, neutropenia, trombocitopenia.	
Trastornos psiquiátricos	
Poco frecuentes: Insomnio.	
Trastornos del sistema nervioso	
Frecuentes: Cefalea, percepción errónea del sabor (sabor metálico). Poco frecuentes: Mareos, hipoestesia, parestesia.	
Trastornos oculares	
Poco frecuentes: Visión borrosa.	
Trastornos del oído y del laberinto	
Poco frecuentes: Acúfenos.	
Trastornos vasculares	
Poco frecuentes: Hipertensión, flebitis / tromboflebitis.	
Trastornos gastrointestinales	
Frecuentes: Diarrea, náuseas, vómitos. Poco frecuentes: Dolor abdominal localizado o generalizado, estreñimiento, boca seca, dispepsia, gastritis, glositis, heces blandas, pancreatitis, estomatitis, trastornos o cambio de color de la lengua.	
Trastornos hepatobiliares	
Frecuentes: Pruebas de función hepática anormales.	
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	
Poco frecuentes: Dermatitis, diaforesis, prurito, erupción, urticaria.	
Trastornos renales y urinarios	
Poco frecuentes: Poliuria.	
Trastornos del aparato reproductor y de la mama	
Poco frecuentes: Trastornos vulvovaginales.	
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	
Poco frecuentes: Escalofríos, fatiga, fiebre, dolor en la zona de inyección, sed aumentada, dolor localizado.	
Exploraciones complementarias	
Bioquímica	
Frecuentes:	Aumento de AST, ALT, LDH, fosfatasa alcalina, BUN, creatinquinasa, lipasa, amilasa o glucemia no basal. Disminución de proteínas totales, albúmina, sodio o calcio. Aumento o disminución de potasio o bicarbonato.
Poco frecuentes:	Aumento de bilirrubina total, creatinina, sodio o calcio. Disminución de la glucemia no basal. Aumento o disminución de cloruro.
Hematología	
Frecuentes:	Neutrofilia o eosinofilia. Disminución de hemoglobina, hematocrito o recuento de hematies. Aumento o disminución del recuento de plaquetas o leucocitos.
Poco frecuentes:	Aumento del recuento de reticulocitos. Neutropenia.
Frecuente \geq 1/100 y $<$ 1/10 ó \geq 1% y $<$ 10%	Poco frecuente \geq 1/1.000 y $<$ 1/100 ó \geq 0,1% y $<$ 1%

de fugas, no debe utilizarse porque puede haber perdido la esterilidad. La solución se inspeccionará visualmente antes de su uso y sólo deben utilizarse las soluciones transparentes y libres de partículas. No utilizar estas bolsas en conexiones seriadas. Desechar toda la solución sobrante. No volver a utilizar bolsas usadas. Zyvoxid solución para perfusión es compatible con las soluciones siguientes: glucosa al 5% para perfusión intravenosa, cloruro sódico al 0,9% para perfusión intravenosa, solución Ringer lactato para inyección (solución de Hartmann). **TITULAR DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN:** Pfizer, S.A. Avda. de Europa 20 B, Parque Empresarial La Moraleja, 28108 Alcobendas, Madrid, España. **NÚMERO DE AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN:** Zyvoxid 2 mg/ml Solución para perfusión. Nº de autorización de comercialización: 64.106; Zyvoxid 100 mg/5 ml Granulado para suspensión oral: 64.107.a.; 64.108; Zyvoxid 600 mg Comprimidos recubiertos con película: 64.109. **FECHA DE LA PRIMERA AUTORIZACIÓN/RENOVACIÓN DE LA AUTORIZACIÓN:** 20 de julio de 2001. **FECHA DE LA REVISIÓN DEL TEXTO:** Julio de 2007. **PRESENTACIONES Y PVP (IVA):** Zyvoxid 2 mg/ml Solución para perfusión intravenosa x 10 bolsas: 667,76 €. Zyvoxid 600 mg Comprimidos con cubierta pelicular x 10 comprimidos: 667,76 €. Zyvoxid 100 mg/5 ml Granulado para suspensión oral x 150 ml: 357,76 €. **CONDICIONES DE DISPENSACIÓN.** Con receta médica. Uso Hospitalario. Consulte la ficha técnica completa antes de prescribir. Para información adicional, por favor, contacte con el Centro de Información Médico-Farmacéutica de Pfizer en www.pfizer.es o llamando al: 900 354 321. **BIBLIOGRAFÍA:** 1. Vardakas KZ et al. Association of pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects of linezolid with infection outcome. Curr Drug Metab. 2009 Jan;10(1):2-12. 2. Plosker GL et al. Linezolid: a pharmacoeconomic review of its use in serious Gram-positive infections. Pharmacoeconomics. 2005;23(9):945-64.

REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Revista Española de Quimioterapia tiene un carácter multidisciplinar y está dirigida a todos aquellos profesionales involucrados en la epidemiología, diagnóstico, clínica y tratamiento de las enfermedades infecciosas

Fundada en 1988 por la Sociedad Española de Quimioterapia

Indexada en
Science Citation Index
Expanded (SCI),
Index Medicus (MEDLINE),
Excerpta Medica/EMBASE,
Índice Médico Español (IME),
Índice Bibliográfico en Ciencias
de la Salud (IBECS)

Secretaría técnica
Dpto. de Microbiología
Facultad de Medicina
Avda. Complutense, s/n
28040 Madrid
revista@seq.es
Disponible en Internet:
www.seq.es

© Copyright 2014
Sociedad Española de
Quimioterapia

Reservados todos los derechos. Queda rigurosamente prohibida, sin la autorización escrita del editor, la reproducción parcial o total de esta publicación por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, y la distribución de ejemplares mediante alquiler o préstamo públicos, bajo las sanciones establecidas por la ley



Sociedad Española de Quimioterapia

Publicidad y Suscripciones
Sociedad Española de Quimioterapia
Dpto. de Microbiología
Facultad de Medicina
Avda. Complutense, s/n
28040 Madrid

Atención al cliente
Teléfono 91 394 15 12
Correo electrónico
info@seq.es

Consulte nuestra página web
www.seq.es

Publicación que cumple los requisitos de
soporte válido

ISSN
0214-3429

e-ISSN
1988-9518

Depósito Legal
M-32320-2012

Composición
Impresos y Revistas, S.A.
Herreros, 42
28906 Getafe (Madrid)
Arte y Diseño
Vicente Aparisi (Edycom)

Impresión
España

Esta publicación se imprime en papel no ácido.
This publication is printed in acid free paper.

LOPD
Informamos a los lectores que, según la Ley 15/1999 de 13 de diciembre, sus datos personales forman parte de la base de datos de la Sociedad Española de Quimioterapia (si es usted socio)

Si desea realizar cualquier rectificación o cancelación de los mismos, deberá enviar una solicitud por escrito bien a la Sociedad Española de Quimioterapia

CUBICIN BOLO INTRAVENOSO DE 2 MINUTOS

ACERTAR DESDE EL PRINCIPIO
ES LA MEJOR MEDICINA

 **CUBICIN**[®]
daptomicina

EFICACIA

- ▶ **Único antibiótico aprobado en los últimos 30 años para tratar bacteriemia y endocarditis bacteriana del lado derecho**^{1,2*}.
- ▶ **Actividad bactericida frente a una amplia gama de bacterias grampositivas** incluyendo tanto SARM y SASM^{3,4}. **El tratamiento antibiótico empírico adecuado aumenta la probabilidad de supervivencia del paciente.**
- ▶ **Rápida resolución** de las infecciones complicadas de piel y partes blandas (IPPBc), en solo **4-7 días**¹.

COMODIDAD

- ▶ **Bolo IV de 2 minutos que facilita la administración** en hospitales de día y en atención domiciliaria.
- ▶ **Contribuye a disminuir la cantidad total del volumen líquido administrado al paciente**⁵.

 **NOVARTIS**
PHARMACEUTICALS

 **CUBICIN**[®]
daptomicina

Bibliografía

*Endocarditis infecciosa del lado derecho debida a "Staphylococcus aureus" y "Bacteriemia por Staphylococcus aureus cuando está asociada con EID o con IPPBc"

1. Arbeit RD et al. The safety and efficacy of daptomycin for the treatment of complicated skin and skin-structure infections. Clin Infect Dis. 2004; 38:1673-81. 2. Fowler VG et al. Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by Staphylococcus aureus. N Eng J Med. 3. Tedesco KL and Rybak MJ. Daptomycin. Pharmacotherapy. 2004; 24:41-57. 4. Rybak MJ. et al. In vitro activities of daptomycin, vancomycin, linezolid, and quinupristindalfopristin against staphylococci and enterococci, including vancomycin-intermediate and -resistant strains. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44:1062-6. 5. Chakraborty A et al., Comparison of pharmacokinetics, safety and tolerability of daptomycin in healthy adult volunteers following intravenous administration by 30 min infusion or 2 min injection. J. Antimicrob Chemother. 2009 July; 64(1): 151-158. Published online 2009 April 22. doi: 10. 1093/jac/dkp155.

CUBICIN[®] es una marca registrada de Cubist Pharmaceuticals, Inc. ("Cubist") y está registrada en Estados Unidos y en otras jurisdicciones. Novartis comercializa CUBICIN[®] con una licencia de Cubist.

NOMBRE DEL MEDICAMENTO. Cubicin 350 mg polvo para solución inyectable y para perfusión. Cubicin 500 mg polvo para solución inyectable y para perfusión. **COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA.** Cada vial contiene 350 / 500 mg de daptomicina. 1 ml contiene 50 mg de daptomicina tras su reconstitución con 7 ml (para la dosis de 350 mg) o con 10 ml (para la dosis de 500 mg) de una solución de cloruro de sodio de 9 mg/ml (0,9%). Para consultar la lista completa de excipientes, ver sección Lista de excipientes. **FORMA FARMACÉUTICA.** Polvo para solución inyectable y para perfusión. Polvo liofilizado de color amarillo pálido a marrón claro. **DATOS CLÍNICOS. Indicaciones terapéuticas.** Cubicin está indicado para el tratamiento de las siguientes infecciones en adultos (ver secciones Advertencias y precauciones especiales de empleo y Propiedades farmacodinámicas). - Infecciones complicadas de piel y partes blandas (IPPBc). - Endocarditis infecciosa del lado derecho (EID) debida a *Staphylococcus aureus*. Se recomienda tener en cuenta la sensibilidad del microorganismo a los agentes antibacterianos al tomar la decisión de utilizar daptomicina, que debe estar basada en el asesoramiento de un experto. Ver secciones Advertencias y precauciones especiales de empleo y Propiedades farmacodinámicas. - Bacteriemia por *Staphylococcus aureus* cuando está asociada con EID o con IPPBc. La daptomicina es activa contra las bacterias gram-positivas solamente. En el caso de infecciones mixtas en que se sospecha la presencia de bacterias gram-negativas y/o ciertos tipos de bacterias anaeróbicas, Cubicin debe ser administrado simultáneamente con agentes antibacterianos apropiados. Deben tomarse en consideración las directrices oficiales sobre el uso apropiado de agentes antibacterianos. **Posología y forma de administración.** Los ensayos clínicos en pacientes utilizaron la perfusión de daptomicina durante 30 minutos. No se dispone de experiencia clínica en pacientes con la administración de daptomicina como una inyección durante 2 minutos. Esta forma de administración únicamente se estudió en voluntarios sanos. Sin embargo, cuando se compara con la misma dosis administrada como una perfusión intravenosa durante 30 minutos no se observaron diferencias clínicamente importantes en la farmacocinética y perfil de seguridad de daptomicina (ver también secciones Reacciones adversas y Propiedades farmacocinéticas). **Posología - IPPBc sin bacteriemia por *Staphylococcus aureus* concurrente:** 4 mg/kg de Cubicin administrados una vez cada 24 horas durante 7-14 días, o hasta la desaparición de la infección. - IPPBc con bacteriemia por *Staphylococcus aureus* concurrente: 6 mg/kg de Cubicin administrados una vez cada 24 horas. Ver a continuación las recomendaciones para el ajuste de dosis en pacientes con deterioro de la función renal. Puede ser necesaria una duración del tratamiento superior a 14 días de acuerdo con el riesgo de complicaciones percibido en cada paciente individualmente. - Endocarditis infecciosa del lado derecho conocida o sospechada debido a *Staphylococcus aureus*: 6 mg/kg de Cubicin administrados una vez cada 24 horas. Ver a continuación las recomendaciones para el ajuste de dosis en pacientes con deterioro de la función renal. La duración del tratamiento debe estar de acuerdo con las recomendaciones oficiales disponibles. Cubicin se administra vía intravenosa en cloruro de sodio al 0,9% (ver sección Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones). Cubicin no debe utilizarse más frecuentemente que una vez al día. **Deterioro de la función renal.** La daptomicina se elimina principalmente a través del riñón. Debido a la experiencia clínica limitada (ver a continuación tabla y pie de tabla), Cubicin debe utilizarse en pacientes con cualquier grado de deterioro de la función renal (aclaramiento de creatinina CLCr < 80 ml/min) únicamente cuando se considere que el beneficio clínico esperado supera el riesgo potencial. Debe monitorizarse estrechamente la respuesta al tratamiento, la función renal y los niveles de creatinina fosfoquinasa (CPK) en todos los pacientes con cualquier grado de deterioro de la función renal (ver también secciones Advertencias y precauciones especiales de empleo y Propiedades farmacocinéticas). **Ajuste de dosis en pacientes con deterioro de la función renal según indicación y aclaramiento de creatinina.** Indicación de uso, Aclaramiento de creatinina, Recomendación de dosis, Comentarios, IPPBc sin bacteriemia por *S. aureus*, ≥ 30 ml/min, 4 mg/kg una vez al día, --, < 30 ml/min, 4 mg/kg cada 48 horas, (1, 2), EID o IPPBc asociadas con bacteriemia por *S. aureus*, ≥ 30 ml/min, 6 mg/kg una vez al día, --, < 30 ml/min, 6 mg/kg cada 48 horas, (1, 2), (1) La seguridad y eficacia del ajuste del intervalo de dosis no se han evaluado en los ensayos clínicos controlados y la recomendación está basada en estudios farmacocinéticos y resultados de modelos farmacocinéticos (ver secciones Advertencias y precauciones especiales de empleo y Propiedades farmacocinéticas). (2) El mismo ajuste de dosis, el cual está basado en los datos farmacocinéticos (PK) en voluntarios incluyendo resultados de modelos PK, se recomienda para pacientes con hemodiálisis (HD) o con diálisis peritoneal ambulatoria continua (CAPD). Siempre que sea posible, Cubicin debe ser administrado tras haber completado la diálisis en los días de diálisis. **Deterioro de la función hepática.** No se precisa un ajuste de la dosis cuando se administra Cubicin a pacientes con deterioro de la función hepática leve o moderado (grado B de Child-Pugh). No se dispone de datos de pacientes con deterioro de la función hepática grave (grado C de Child-Pugh). Por lo tanto, la administración de Cubicin a estos pacientes debe realizarse con cautela. **Pacientes de edad avanzada.** En pacientes de edad avanzada se administrará la dosis recomendada, excepto en aquellos con deterioro de la función renal grave (ver arriba y la sección Advertencias y precauciones especiales de empleo). Sin embargo, los datos disponibles sobre la seguridad y la eficacia de la daptomicina en pacientes > 65 años son limitados y la administración de Cubicin a estos pacientes debe realizarse con cautela. **Población pediátrica.** No se ha establecido la seguridad y eficacia de Cubicin en niños y adolescentes menores de 18 años. Los datos actualmente disponibles están descritos en la sección 5.2; sin embargo, no se puede hacer una recomendación posológica. **Forma de administración.** Cubicin se administra vía perfusión intravenosa (ver sección Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones) durante un periodo de 30 minutos o vía inyección intravenosa (ver sección Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones) durante un periodo de 2 minutos. **Contraindicaciones.** Hipersensibilidad al principio activo o a alguno de los excipientes. **Advertencias y precauciones especiales de empleo.** **General.** Si tras el inicio del tratamiento con Cubicin se identifica un foco de infección que no sea IPPBc o EID, debe considerarse la instauración de un tratamiento antibacteriano alternativo que haya demostrado ser eficaz en el tratamiento del tipo específico de infección(es) presente(s). **Reacciones anafilácticas/hipersensibilidad.** Se han notificado reacciones anafilácticas/hipersensibilidad con Cubicin. Si se produce una reacción alérgica a Cubicin, se debe interrumpir el tratamiento e instaurar una terapia adecuada. **Neumonía.** Ha quedado demostrado en los ensayos clínicos que Cubicin no es eficaz en el tratamiento de la neumonía. Por lo tanto, Cubicin no está indicado para el tratamiento de la neumonía. **EID causada por *Staphylococcus aureus*.** Los datos clínicos sobre el uso de Cubicin en el tratamiento de la EID debida a *Staphylococcus aureus* se limitan a 19 pacientes. No se ha demostrado la eficacia de Cubicin en pacientes con infecciones en la válvula protésica o con endocarditis infecciosa del lado izquierdo debida a *Staphylococcus aureus*. **Infecciones profundas establecidas.** Los pacientes con infecciones profundas establecidas deben someterse sin retraso a cualquier intervención quirúrgica que sea necesaria (p.ej. desbridamiento, extirpación de dispositivos protésicos, cirugía de sustitución de la válvula). **Infecciones enterocócicas.** No existe evidencia suficiente para poder determinar la posible eficacia clínica de Cubicin en infecciones causadas por enterococos, incluyendo *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*. Además, no se han identificado las pautas posológicas de daptomicina apropiadas para el tratamiento de infecciones enterocócicas, con o sin bacteriemia. Se han notificado fracasos con daptomicina en el tratamiento de infecciones causadas por enterococos que estuvieron acompañadas principalmente por bacteriemia. En algunos casos, este fracaso terapéutico estuvo asociado con la selección de organismos con sensibilidad reducida o resistencia clara a daptomicina. **Microorganismos no sensibles.** El uso de antibacterianos puede favorecer el sobrecrecimiento de microorganismos no sensibles. Si se produce una sobreinfección durante la terapia, deben tomarse las medidas apropiadas. **Diarrea asociada a *Clostridium difficile*.** Se ha notificado diarrea asociada a *Clostridium difficile* (DADC) con Cubicin (ver sección Reacciones adversas). Si se confirma o sospecha la DADC, puede ser necesario interrumpir el tratamiento con Cubicin e instaurar una terapia adecuada según esté indicado clínicamente. **Interacciones fármaco/ensayos de laboratorio.** Se ha observado falsa prolongación del tiempo de protrombina (TP) y elevación del cociente o ratio internacional normalizado (INR) cuando se utilizan para la valoración ciertos reactivos de la tromboplastina recombinante (ver también sección Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción). **Creatinina fosfoquinasa y miopatía.** Durante la terapia con Cubicin se han observado incrementos de los niveles de la creatinina fosfoquinasa en el plasma (CPK; isoenzima MM) asociados con dolores musculares y/o debilidad y casos de miositis, mioglobinemia y rhabdomiolisis (ver también las secciones Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción, Reacciones adversas y Datos preclínicos sobre seguridad). Durante los ensayos clínicos, se produjeron acusados incrementos de la CPK en el plasma superando 5x el Límite Superior de la Normalidad (LSN) sin síntomas musculares, con mayor frecuencia en los pacientes tratados con Cubicin (1,9%) que en aquellos que recibieron un fármaco comparador (0,5%). Por lo tanto, se recomienda que: • La CPK en el plasma debe ser medida al inicio del tratamiento y a intervalos regulares (al menos una vez por semana) en todos los pacientes durante la terapia. • La CPK se debe medir más frecuentemente (al menos las dos primeras semanas de tratamiento, cada 2-3 días p.ej.) en pacientes con un riesgo incrementado de desarrollar una miopatía. Por ejemplo, pacientes con cualquier grado de deterioro de la función renal (aclaramiento de creatinina < 80 ml/min, ver también sección Posología y forma de administración), incluyendo aquellos con hemodiálisis o CAPD, y pacientes que estén tomando otros medicamentos con asociación conocida con miopatía (por ej. inhibidores de la HMG-CoA reductasa, fibratos y ciclosporina). • En los pacientes con niveles iniciales de la CPK superiores en más de cinco veces al límite superior de la normalidad no puede descartarse que el riesgo de sufrir más incrementos durante el tratamiento con daptomicina sea mayor. Esto debe tenerse en cuenta al iniciar una terapia con daptomicina y, en caso de administración, estos pacientes deben ser monitorizados más de una vez por semana. • No debe administrarse Cubicin a pacientes que estén tomando otros medicamentos asociados con miopatía, a no ser que se considere que el beneficio para el paciente es superior al riesgo. • Los pacientes deben ser monitorizados regularmente durante la terapia para detectar cualquier signo o síntoma que pueda indicar una miopatía. • Deben monitorizarse los niveles de CPK cada dos días en todo paciente que desarrolle un dolor muscular de etiología desconocida, hipersensibilidad, debilidad o calambres. En el caso de un dolor muscular de etiología desconocida, debe interrumpirse la administración de Cubicin si el nivel de la CPK alcanza un valor mayor de 5 veces el límite superior al normal. **Neuropatía periférica.** Los pacientes que desarrollen signos o síntomas que pudieran indicar una neuropatía periférica durante la terapia con Cubicin deben ser monitorizados y debe considerarse la interrupción del tratamiento con daptomicina (ver secciones Reacciones adversas y Datos preclínicos sobre seguridad). **Neumonía eosinofílica.** Se han notificado casos de neumonía eosinofílica en pacientes que están recibiendo Cubicin (ver sección Reacciones adversas). En la mayoría de los casos notificados asociados con Cubicin, los pacientes desarrollaron fiebre, disnea con insuficiencia respiratoria hipóxica e infiltrados pulmonares difusos. La mayoría de los casos se produjeron después de más de 2 semanas de tratamiento con Cubicin y mejoraron cuando se interrumpió el tratamiento con el mismo y se inició el tratamiento con esteroides. Se ha notificado recurrencia de la neumonía eosinofílica en relación a la reexposición. Los pacientes que desarrollen estos signos y síntomas mientras estén recibiendo Cubicin deben ser sometidos a una evaluación médica rápida, incluyendo, si es necesario, lavado broncoalveolar, para excluir otras causas (p.ej. infección bacteriana, infección fúngica, parásitos, otros medicamentos). Debe interrumpirse inmediatamente el tratamiento con Cubicin e iniciarse el tratamiento con esteroides sistémicos en caso necesario. **Deterioro de la función renal.** Se han observado casos de deterioro de la función renal durante el tratamiento con Cubicin. El deterioro de la función renal grave puede también, por sí mismo, predisponer a una elevación de los niveles de daptomicina, los cuales pueden incrementar el riesgo de desarrollo de una miopatía (ver arriba). Se necesita un ajuste del intervalo de dosis de Cubicin en pacientes cuyo aclaramiento de la creatinina sea < 30 ml/min (ver secciones Posología y forma de administración y Propiedades farmacocinéticas). La seguridad y la eficacia del ajuste de los intervalos de dosis no se han evaluado en los ensayos clínicos controlados y la recomendación está basada principalmente en datos de modelos farmacocinéticos. Cubicin sólo debe usarse en tales pacientes si se considera que el beneficio clínico esperado supera al riesgo potencial. Se recomienda precaución cuando se administra Cubicin a pacientes que padezcan ya algún grado de deterioro de la función renal (aclaramiento de la creatinina < 80 ml/min) antes del inicio de la terapia con Cubicin. En estos casos, se recomienda una monitorización periódica de la función renal. Además, se recomienda una monitorización periódica de la función renal durante la administración conjunta de agentes potencialmente nefrotóxicos, con independencia de la función renal preexistente del paciente (ver también sección Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción). **Obesidad.** En individuos obesos con un índice de masa corporal (IMC) > 40 kg/m² pero con un aclaramiento de la creatinina > 70 ml/min, el AUC₀₋₂₄ (área bajo la curva) de la daptomicina aumentó significativamente (un 42% de media) en comparación con los controles no obesos. Se dispone de información limitada sobre la seguridad y la eficacia de la daptomicina en los pacientes muy obesos y, por ello, se recomienda precaución. Sin embargo, a día de hoy no hay evidencia de que sea necesario el reducir la dosis. **Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción.** La daptomicina sufre poco o ningún metabolismo mediado por el citocromo P450 (CYP450). Es improbable que la daptomicina inhiba o induzca el metabolismo de medicamentos metabolizados por el sistema P450. Se realizaron estudios de interacción para Cubicin con aztreonam, tobramicina, warfarina y probenecida. La daptomicina no tuvo efecto sobre la farmacocinética de warfarina o probenecida, ni estos medicamentos alteraron la farmacocinética de daptomicina. La farmacocinética de daptomicina no se vio significativamente alterada por aztreonam. Aunque se observaron pequeños cambios en la farmacocinética de daptomicina y tobramicina durante la administración conjunta mediante perfusión intravenosa durante un periodo de 30 minutos utilizando una dosis de Cubicin de 2 mg/kg, los cambios no fueron estadísticamente significativos. Se desconoce la interacción entre daptomicina y tobramicina con una dosis autorizada de Cubicin. Se recomienda precaución cuando Cubicin se administra conjuntamente con tobramicina. La experiencia con la administración concomitante de Cubicin y warfarina es limitada. No se han realizado estudios de Cubicin con anticoagulantes distintos de warfarina. Debe monitorizarse la actividad anticoagulante en pacientes que reciben Cubicin y warfarina durante los primeros días después de iniciar el tratamiento con Cubicin. Se dispone de una experiencia limitada en relación con la administración conjunta de daptomicina con otros medicamentos que puedan causar una miopatía (p.ej. inhibidores de la HMG-CoA reductasa). Sin embargo, se produjeron algunos casos de incrementos considerables de la CPK, así como de rhabdomiolisis, en pacientes que tomaban alguno de estos medicamentos al mismo tiempo que Cubicin. Se recomienda la interrupción, siempre que sea posible, de la administración de otros medicamentos asociados a miopatía durante el tratamiento con Cubicin, a menos que los beneficios de la administración conjunta superen a los riesgos. Si no puede evitarse la administración simultánea, los niveles de CPK deben ser medidos más de una vez por semana y los pacientes deben ser monitorizados cuidadosamente para cualquier signo o síntoma que pueda representar una miopatía. Ver secciones Advertencias y precauciones especiales de empleo, Reacciones adversas y Datos preclínicos sobre seguridad. La daptomicina se elimina fundamentalmente por filtración renal, por lo que los niveles en el plasma pueden verse incrementados durante la administración simultánea de medicamentos que reducen la filtración renal (por ej. AINEs e inhibidores de la COX-2). Además, es posible que se produzca una interacción farmacodinámica durante la administración simultánea debido a la suma de los efectos renales. Por lo tanto, se recomienda precaución cuando se administre daptomicina simultáneamente con cualquier otro medicamento que se sepa que reduce la filtración renal. Durante la farmacovigilancia

post-comercialización se han notificado casos de interferencia entre la daptomicina y determinados reactivos usados en algunos ensayos de determinación del tiempo de protrombina/cociente o ratio internacional normalizado (TP/INR). Esta interferencia causa una falsa prolongación del tiempo de protrombina y una elevación del INR. Si se observan desviaciones inexplicables de los valores del TP e INR en pacientes que usan daptomicina, debe pensarse en una posible interacción *in vitro* en el análisis del laboratorio. La posibilidad de resultados erróneos puede minimizarse tomando muestras para los ensayos del TP o de la INR en un momento en el cual las concentraciones plasmáticas de daptomicina sean mínimas (ver sección Advertencias y precauciones especiales de empleo). **Fertilidad, embarazo y lactancia.** Embarazo. No se dispone de datos clínicos de embarazos expuestos a la daptomicina. Los estudios en animales no sugieren efectos perjudiciales directos ni indirectos en términos de embarazo, desarrollo embrional/fetal, parto o desarrollo posnatal. Cubicin no debe utilizarse durante el embarazo a no ser que sea claramente necesario, es decir, solamente si los beneficios esperados superan los posibles riesgos. Lactancia. En un estudio de un único caso en humanos, Cubicin se administró por vía intravenosa diariamente durante 28 días a una madre lactante a una dosis de 500 mg/día, y se recogieron muestras de leche de la paciente durante un periodo de 24 horas en el día 27. La concentración medida más elevada de daptomicina en la leche fue de 0,045 mg/ml, la cual es una concentración baja. Por lo tanto, hasta que no se obtenga una mayor experiencia, debe interrumpirse la lactancia cuando Cubicin se administra a madres lactantes. Fertilidad. No se dispone de datos clínicos sobre fertilidad para daptomicina. Los estudios en animales no sugieren efectos perjudiciales directos ni indirectos en términos de fertilidad. **Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas.** No se han realizado estudios de los efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas. Considerando las reacciones adversas observadas, se considera poco probable que Cubicin produzca efecto alguno sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas. **Reacciones adversas. Resumen del perfil de seguridad.** En los ensayos clínicos, 2.011 sujetos recibieron Cubicin. En estos ensayos, 1.221 sujetos recibieron una dosis diaria de 4 mg/kg, de los cuales 1.108 eran pacientes y 113 eran voluntarios sanos; 460 sujetos recibieron una dosis diaria de 6 mg/kg, de los cuales 304 eran pacientes y 156 eran voluntarios sanos. Se notificaron reacciones adversas (consideradas por el investigador como posible, probable o definitivamente relacionadas con el medicamento) con una frecuencia similar en los tratamientos con Cubicin y comparador. Las reacciones adversas notificadas más frecuentemente (frecuencia definida como frecuente (≥ 1/100 a < 1/10)) son: Infecciones fúngicas, infección del tracto urinario, candidiasis, anemia, ansiedad, insomnio, mareos, cefalea, hipertensión, hipotensión, dolor gastrointestinal y abdominal, náuseas, vómitos, estreñimiento, diarrea, flatulencia, hinchazón y distensión, niveles anormales de la función hepática (aumento de la alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) o fosfatasa alcalina (ALP)), exantema, prurito, dolor del limbo, aumento de la creatina fosfoquinasa (CPK), reacciones en el lugar de la inyección, pirexia, astenia. Las reacciones adversas notificadas menos frecuentemente, pero más graves, incluyen reacciones de hipersensibilidad, neumonía eosinofílica, erupción cutánea con eosinofilia y síntomas sistémicos causada por fármacos (DRESS), angioedema y rabdomiolisis. **Listado tabulado de reacciones adversas.** Se notificaron las siguientes reacciones adversas durante la terapia y durante el seguimiento, clasificadas en intervalos de frecuencias definidos como: muy frecuentes (≥ 1/10); frecuentes (≥ 1/100 a < 1/10); poco frecuentes (≥ 1/1.000 a < 1/100); raras (≥ 1/10.000 a < 1/1.000); muy raras (< 1/10.000); frecuencia no conocida (no puede estimarse a partir de los datos disponibles). Las reacciones adversas se enumeran en orden decreciente de gravedad dentro de cada intervalo de frecuencia. **Table 1. Reacciones adversas de los ensayos clínicos e informes postcomercialización. Clasificación de órganos del sistema.**

Frecuencia. Reacciones adversas. Infecciones e infestaciones. **Frecuente:** Infecciones fúngicas, infección del tracto urinario, candidiasis. **Poco frecuente:** Fungemia. **No conocida:** Diarrea asociada a *Clostridium difficile*. Trastornos de la sangre y del sistema linfático. **Frecuente:** Anemia. **Poco frecuente:** Trombocitemia, eosinofilia, elevación del cociente o ratio internacional normalizado (INR). **Rara:** Tiempo de protrombina (TP) prolongado. Trastornos del sistema inmunológico. **No conocida:** Hipersensibilidad** (notificaciones espontáneas aisladas) con síntomas que incluyen, entre otros: angioedema, erupción cutánea por fármacos con eosinofilia y síntomas sistémicos (DRESS), eosinofilia pulmonar, exantema vesiculobulboso con afectación de la membrana mucosa y sensación de tumefacción orofaríngea. **No conocida:** Anafilaxia**. **No conocida:** Reacciones a la perfusión, que incluyen los siguientes síntomas: taquicardia, respiración sibilante, pirexia, rigidez, sofocos sistémicos, vértigo, síncope y sensación metálica al gusto. Trastornos del metabolismo y de la nutrición. **Poco frecuente:** Disminución del apetito, hiperglucemia, desequilibrio electrolítico. Trastornos psiquiátricos. **Frecuente:** Ansiedad, insomnio. Trastornos del sistema nervioso. **Frecuente:** Mareos, cefalea. **Poco frecuente:** Parestesia, trastornos del gusto, temblor. **No conocida:** Neuropatía periférica** Trastornos del oído y del laberinto. **Poco frecuente:** Vértigo. Trastornos cardíacos. **Poco frecuente:** Taquicardia supraventricular, extrasístole. Trastornos vasculares. **Frecuente:** Hipertensión, hipotensión. **Poco frecuente:** Sofocos. Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos. **No conocida:** Neumonía eosinofílica**, tos. Trastornos gastrointestinales. **Frecuente:** Dolor gastrointestinal y abdominal, náuseas, vómitos, estreñimiento, diarrea, flatulencia, hinchazón y distensión. **Poco frecuente:** Dispepsia, glositis. Trastornos hepatobiliares. **Frecuente:** Niveles anormales de la función hepática (aumento de la alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) o fosfatasa alcalina (ALP)). **Rara:** Ictericia. Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo. **Frecuente:** Exantema, prurito. **Poco frecuente:** Urticaria. Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo. **Frecuente:** Dolor del limbo, aumento de la creatina fosfoquinasa (CPK). **Poco frecuente:** Miositis, aumento de la mioglobina, debilidad muscular, dolor muscular, artralgia, aumento de la lactato sérico deshidrogenasa (LDH). **No conocida:** Rabdomiolisis**. Trastornos renales y urinarios. **Poco frecuente:** Deterioro de la función renal, incluyendo fallo renal e insuficiencia renal, aumento de la creatinina sérica. Trastornos del aparato reproductor y de la mama. **Poco frecuente:** Vaginitis. Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración. **Frecuente:** Reacciones en el lugar de la inyección, pirexia, astenia. **Poco frecuente:** Fatiga, dolor * Basado en los informes postcomercialización. Debido a que estas reacciones son notificadas voluntariamente por una población de tamaño incierto, no es posible estimar de manera fidedigna su frecuencia, por lo que ésta se define como frecuencia no conocida. **Ver sección Advertencias y precauciones especiales de empleo. *Aunque la incidencia exacta de neumonía eosinofílica asociada con daptomicina es desconocida, hasta la fecha la tasa de notificaciones espontáneas es muy baja (< 1/100.000 pacientes). **En algunos casos de miopatía con la CPK elevada y síntomas musculares, los pacientes presentaron también valores de transaminasas elevados. Estos incrementos se encuentran positivamente relacionados con los efectos sobre la musculatura esquelética. La mayoría de tales incrementos se correspondían con una toxicidad del grado 1-3 y se resolvieron tras la interrupción del tratamiento. †En aquellos casos en que se disponía de información clínica sobre los pacientes para emitir un juicio, aproximadamente el 50% de los casos de rabdomiolisis se produjeron en pacientes que tenían deterioro de la función renal preexistente, o que estaban recibiendo un tratamiento concomitante que se conoce que provoca rabdomiolisis. Los datos de seguridad de la administración de daptomicina vía inyección intravenosa durante 2 minutos provienen de dos estudios farmacocinéticos en voluntarios sanos. En base a los resultados de estos estudios, los dos métodos de administración de daptomicina, la inyección intravenosa durante 2 minutos y la perfusión intravenosa durante 30 minutos, tienen un perfil similar de tolerancia y seguridad. No existe una diferencia relevante en cuanto a la tolerancia local o en la naturaleza y frecuencia de las reacciones adversas. **Sobredosis.** En caso de sobredosis se recomienda terapia de soporte. La daptomicina se elimina del cuerpo lentamente mediante hemodiálisis (aproximadamente un 15% de la dosis administrada se elimina a 4 horas) o mediante diálisis peritoneal (aproximadamente un 11% de la dosis administrada se elimina en 48 horas). **DATOS FARMACÉUTICOS. Lista de excipientes.** Hidróxido de sodio.

Incompatibilidades. Cubicin no es ni física ni químicamente compatible con disoluciones que contengan glucosa. Este medicamento no debe mezclarse con otros, excepto con los mencionados en la sección Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones. **Periodo de validez** 3 años. Después de la reconstitución: La estabilidad física y química durante el uso de la solución reconstituida en el vial ha sido demostrada para 12 horas a 25°C y hasta un máximo de 48 horas a 2°C - 8°C. La estabilidad física y química de la solución diluida en bolsas para perfusión se ha establecido en 12 horas a 25°C o 24 horas a 2°C - 8°C. Para la perfusión intravenosa durante 30 minutos, el tiempo combinado de conservación (solución reconstituida en el vial y solución diluida en bolsas para perfusión; ver sección Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones) a 25°C no debe exceder las 12 horas (o 48 horas a 2°C - 8°C). Para la inyección intravenosa durante 2 minutos, el tiempo de conservación de la solución reconstituida en el vial (ver sección Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones) a 25°C no debe exceder las 12 horas (o 48 horas a 2°C - 8°C). Sin embargo, desde un punto de vista microbiológico, el producto debe usarse inmediatamente. Este producto no contiene conservantes o agentes bacteriostáticos. Si no se usa inmediatamente, el tiempo de almacenaje durante el uso es responsabilidad del usuario y, normalmente, no debería ser superior a las 24 horas a 2°C - 8°C, a no ser que la reconstitución/dilución haya tenido lugar en condiciones asepticas controladas y validadas. **Precauciones especiales de conservación.** Conservar en nevera (entre 2°C y 8°C). Para las condiciones de conservación del medicamento reconstituido o diluido, ver sección Periodo de validez. **Naturaleza y contenido del envase.** Viales individuales de 10 ml de vidrio transparente tipo I con tapones de goma tipo I y precintos de aluminio con cápsula de cierre "flip-off" de plástico amarillo (para la dosis de 350 mg) o de plástico azul (para la dosis de 500 mg). Disponible en envases que contienen 1 vial o 5 viales. **Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones.** Daptomicina se puede administrar por vía intravenosa como una perfusión durante 30 minutos o como una inyección durante 2 minutos (ver secciones Posología y forma de administración y Propiedades farmacocinéticas). La preparación de la solución para perfusión requiere una fase de dilución adicional, tal y como se describe a continuación. **Cubicin administrado como perfusión intravenosa durante 30 minutos.** Reconstituyendo el producto liofilizado con 7 ml (para la dosis de 350 mg) o con 10 ml (para la dosis de 500 mg) de una solución inyectable con 9 mg/ml de cloruro de sodio (0,9%), se puede obtener una concentración de 50 mg/ml de Cubicin para perfusión. El producto liofilizado tarda 15 minutos aproximadamente en disolverse. El producto completamente reconstituido tiene un aspecto transparente y puede presentar algunas burbujas pequeñas o espuma alrededor del borde del vial. Para preparar Cubicin para perfusión intravenosa, siga las siguientes instrucciones: Para reconstituir Cubicin liofilizado debe utilizarse durante todo el proceso una técnica aseptica. 1. La cápsula de cierre "flip-off" de polipropileno debe quitarse para dejar visible la parte central del tapón de goma. Extraer en una jeringa 7 ml (para la dosis de 350 mg) o 10 ml (para la dosis de 500 mg) de una solución inyectable con 9 mg/ml de cloruro de sodio (0,9%), e inyectar lentamente a través del centro del tapón de goma dentro del vial, apuntando la aguja hacia la pared del vial. 2. El vial debe girarse suavemente para asegurar que se empaque completamente el producto, y después se deja reposar durante 10 minutos. 3. Finalmente, se debe girar/agitar el vial suavemente durante unos minutos hasta obtener una solución reconstituida transparente. Se debe evitar la agitación demasiado vigorosa para no generar espuma. 4. Se debe inspeccionar cuidadosamente la solución reconstituida antes de utilizarla para asegurarse de que la sustancia está disuelta y para verificar la ausencia de partículas en suspensión. El color de la solución reconstituida de Cubicin puede variar desde amarillo pálido hasta marrón claro. 5. La solución reconstituida debe diluirse a continuación con 9 mg/ml de cloruro de sodio (0,9%) (volumen típico de 50 ml). 6. Invertir el vial con el fin de que la solución caiga hacia el tapón. Utilizando una nueva jeringa, insertar la aguja en el vial invertido. Manteniendo el vial invertido, colocar la punta de la aguja en el punto más bajo del líquido mientras se extrae la solución en la jeringa. Antes de retirar la aguja del vial, tirar el émbolo hacia atrás hasta el final del cilindro de la jeringa con el fin de retirar toda la solución del vial invertido. 7. Sustituir la aguja por una nueva para la perfusión intravenosa. 8. Expulsar el aire, las burbujas grandes y cualquier exceso de solución con el fin de obtener la dosis requerida. 9. La solución reconstituida y diluida debe perfundirse vía intravenosa durante 30 minutos como se describe en la sección Posología y forma de administración. Los siguientes fármacos han demostrado ser compatibles cuando se añaden a soluciones para perfusión que contienen Cubicin: aztreonam, ceftazidima, ceftriaxona, gentamicina, fluconazol, levofloxacino, dopamina, heparina y lidocaína. **Cubicin administrado como inyección intravenosa durante 2 minutos.** No debe utilizarse agua para la reconstitución de Cubicin para inyección intravenosa. Cubicin debe reconstituirse únicamente con 9 mg/ml de cloruro de sodio (0,9%). Reconstituyendo el producto liofilizado con 7 ml (para la dosis de 350 mg) o con 10 ml (para la dosis de 500 mg) de una solución inyectable con 9 mg/ml de cloruro de sodio (0,9%), se obtiene una concentración de 50 mg/ml de Cubicin para inyección. El producto liofilizado tarda 15 minutos aproximadamente en disolverse. El producto completamente reconstituido tiene un aspecto transparente y puede presentar algunas burbujas pequeñas o espuma alrededor del borde del vial. Para preparar Cubicin para inyección intravenosa, siga las siguientes instrucciones: Para reconstituir Cubicin liofilizado debe utilizarse durante todo el proceso una técnica aseptica. 1. La cápsula de cierre "flip-off" de polipropileno debe quitarse para dejar visible la parte central del tapón de goma. Extraer en una jeringa 7 ml (para la dosis de 350 mg) o 10 ml (para la dosis de 500 mg) de una solución inyectable con 9 mg/ml de cloruro de sodio (0,9%), e inyectar lentamente a través del centro del tapón de goma dentro del vial, apuntando la aguja hacia la pared del vial. 2. El vial debe girarse suavemente para asegurar que se empaque completamente el producto, y después se deja reposar durante 10 minutos. 3. Finalmente, se debe girar/agitar el vial suavemente durante unos minutos hasta obtener una solución reconstituida transparente. Se debe evitar la agitación demasiado vigorosa para no generar espuma. 4. Se debe inspeccionar cuidadosamente la solución reconstituida antes de utilizarla para asegurarse de que la sustancia está disuelta y para verificar la ausencia de partículas en suspensión. El color de la solución reconstituida de Cubicin puede variar desde amarillo pálido hasta marrón claro. 5. Invertir el vial con el fin de que la solución caiga hacia el tapón. Utilizando una nueva jeringa, insertar la aguja en el vial invertido. Manteniendo el vial invertido, colocar la punta de la aguja en el punto más bajo del líquido mientras se extrae la solución en la jeringa. Antes de retirar la aguja del vial, tirar el émbolo hacia atrás hasta el final del cilindro de la jeringa con el fin de retirar toda la solución del vial invertido. 6. Sustituir la aguja por una nueva para la inyección intravenosa. 7. Expulsar el aire, las burbujas grandes y cualquier exceso de solución con el fin de obtener la dosis requerida. 8. La solución reconstituida debe inyectarse lentamente vía intravenosa durante 2 minutos como se describe en la sección Posología y forma de administración. Los viales de Cubicin son exclusivamente para uso único. Desde el punto de vista microbiológico, el producto debe utilizarse inmediatamente después de la reconstitución (ver sección Periodo de validez). La eliminación del medicamento no utilizado y de todos los materiales que hayan estado en contacto con él se realizará de acuerdo con la normativa local. **TITULAR DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN.** Novartis Europharm Limited, Wimblesbury Road, Horsham, West Sussex, RH12 5AB, Reino Unido. **NÚMERO(S) DE AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN.** EU/1/05/328/001, EU/1/05/328/002, EU/1/05/328/003, EU/1/05/328/004. **FECHA DE LA PRIMERA AUTORIZACIÓN/RENOVACIÓN DE LA AUTORIZACIÓN.** Fecha de la primera autorización: 19/enero/2006. Fecha de la última renovación: 19/enero/2011. **FECHA DE LA REVISIÓN DEL TEXTO.** 02/2012. La información detallada de este medicamento está disponible en la página web de la Agencia Europea de Medicamentos <http://www.ema.europa.eu>. **PRECIO Y CONDICIONES DE PRESCRIPCIÓN Y DISPENSACIÓN:** Cubicin 350 mg (envase de 1 vial): PVL: 79,56 Euros y PVP (IVA): 124,20 Euros; Cubicin 500 mg (envase de 1 vial): PVL: 100,01 Euros y PVP (IVA): 151,76 Euros. Con receta médica. Especialidad Farmacéutica de Uso Hospitalario.

Director
J. Barberán López

Secretario de Redacción
Luis Alou Cervera

Comité Editorial

F. Álvarez Lerma (Barcelona)
F. Baquero Mochales (Madrid)
E. Bouza Santiago (Madrid)
J. A. García Rodríguez (Salamanca)
M. Gobernado Serrano (Valencia)

J. Mensa Pueyo (Barcelona)
J. J. Picazo de la Garza (Madrid)
J. Prieto Prieto (Madrid)
B. Regueiro García (Santiago de Compostela)
A. Torres Martí (Barcelona)

Consejo Editorial

G. Acuña (Chile)
J. M. Aguado (Madrid)
L. Aguilar (Madrid)
J. I. Alós (Madrid)
J. R. Azanza (Pamplona)
J. Aragón (Las Palmas de Gran Canaria)
A. Artero (Valencia)
J. Campos (Madrid)
F.J. Candel (Madrid)
E. Cantón (Valencia)
R. Cantón (Madrid)
J. A. Capdevila Morell (Barcelona)
E. Carreras (Barcelona)
M. Casal (Córdoba)
J. Castillo (Zaragoza)
J. J. Castón (Ciudad Real)
R. Cisterna (Bilbao)
J. Cobo Reinoso (Madrid)
J. Cordero (Madrid)
P. Courvalin (Francia)
J. L. del Pozo (Navarra)
R. De la Cámara (Madrid)
M. De la Rosa (Granada)
J. De la Torre (Córdoba)
A. Delgado (Bilbao)
A. Domínguez-Gil Hurlé (Salamanca)

J. Eiros (Valladolid)
M. C. Fariñas Álvarez (Santander)
C. Fariñas (Santander)
S. M. Finegold (Estados Unidos)
J. Fortún (Madrid)
X. Garau (Barcelona)
E. García Sánchez (Salamanca)
I. García García (Salamanca)
J. García Rodríguez (Madrid)
J. E. García Sánchez (Salamanca)
E. García Vázquez (Murcia)
H. Giamarellou (Grecia)
A. C. Gómez García (Badajoz)
J. Gómez Gómez (Murcia)
M. L. Gómez-Lus (Madrid)
J. González del Castillo (Madrid)
F. González Romo (Madrid)
E. Gotuzzo (Perú)
J. J. Granizo (Madrid)
S. Grau (Barcelona)
J. Guinea (Madrid)
X. Guirao (Barcelona)
N. Gutierrez Zufiaurre (Salamanca)
J. Hernández Quero (Granada)
J. P. Horcajada Gallego (Barcelona)
R. Isturiz (Venezuela)
J. Kosmidis (Grecia)
H. Lecour (Portugal)
J. Liñares (Barcelona)

J. E. Losa García (Madrid)
J. R. Maestre Vera (Madrid)
A. M. Martín Sánchez (Las Palmas)
I. Martínez Gil (Madrid)
L. Martínez Martínez (Santander)
E. Maseda (Madrid)
T. Mazzei (Italia)
M. A. Menéndez (Madrid)
R. Menéndez (Valencia)
R. Meyer (Estados Unidos)
P. Muñoz (Madrid)
J. L. Muñoz Bellido (Salamanca)
A. Navarro (Madrid)
V. Navarro (Alicante)
R. Negroni (Argentina)
C. E. Nord (Suecia)
A. Novelli (Italia)
V. Olmo (Las Palmas)
A. Orero (Madrid)
R. Ortiz de Lejarazu (Valladolid)
J. A. Oteo (Logroño)
E. Palencia Herrejón (Madrid)
J. Parra (Granada)
A. Pascual Hernández (Sevilla)
J. Pasquau (Sevilla)
J. Pemán (Valencia)
C. Pérez Giraldo (Badajoz)
J. E. Perea (Sevilla)
B. Pérez-Gorricho (Madrid)

A. Ramos (Madrid)
C. Ramírez Ronda (Estados Unidos)
J. Reina (Palma de Mallorca)
M. A. Ripoll (Ávila)
E. Rodríguez Noriega (México)
J. L. Rodríguez Tudela (Madrid)
J. Sabbaj (Guatemala)
M. Sabriá (Barcelona)
M. Salavert (Valencia)
B. Sánchez Artola (Madrid)
J. I. Santos (México)
M. A. Sanz (Valencia)
M. Segovia (Murcia)
R. Serrano (Madrid)
P. M. Shah (Alemania)
D. Sevillano (Madrid)
A. Soriano (Barcelona)
A. Tomasz (Estados Unidos)
J. R. Toral Revuelta (Madrid)
J. Tuells (Alicante)
C. Vallejo (Oviedo)
K. Ueno (Japón)
J. Vila (Barcelona)
J. Yuste (Madrid)

Sumario



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Volumen 28
Número 2
Abril 2015

Revisión	Tigeciclina: 10 años de historia y en plena vigencia José Barberán, Santiago Salso, Almudena Alhambra	61
Originales	Análisis de la asociación entre genotipos y resistencia a múltiples antimicrobianos en aislados de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina Vicente Aguadero, Carmen González-Velasco, Ana Vindel, Miguel González-Velasco, Juan José Moreno	79
	Detección de uropatógenos inusuales durante un periodo de 3 años en un hospital regional Cristina Gómez-Camarasa, Carmen Liébana-Martos, José María Navarro-Marí, José Gutiérrez-Fernández	86
	Mortalidad entre los portadores de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina en centros sociosanitarios Ester Vendrell, Josep A Capdevila, Pilar Barrufet, Lluís Force, Goretti Sauca, Encarna Martínez, Elisabet Palomera, Mateu Serra-Prat, Jordi Cornudella, Annabel Llopis, M ^a Asunción Robledo, Crisóstomo Vázquez	92
	Evaluación de métodos fenotípicos para la detección de <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina Gertrudis Horna, Lizeth Astocondor, Jan Jacobs, Coralith Garcia	98
	Diversidad genotípica y fenotípica en <i>Enterococcus faecalis</i>: ¿Es la invasión en agar un marcador de patogenicidad? Fabio Cafini, Fernando Gómez-Aguado, María Teresa Corcuera, Carmen Ramos, Pedro Bas, Luis Collado, María Luisa Gómez-Lus, José Prieto	101
Cartas al Director	Aparición de <i>Enterococcus faecium</i> resistente a daptomicina en un paciente crítico con sepsis intraabdominal postoperatoria Frederic Ballester, Isabel Pujol, Pitter Cueto, Conxita Rovira, Simona Iftimie, Jordi Camps	109
	Bacteriemia por <i>Helicobacter cinaedi</i> en paciente infectado por virus hepatitis C tratado con triple terapia Beatriz Lacruz, María Pilar Huarte, Gregorio Tiberio, Luis Torroba, Iván Quispe	111
	Diagnóstico de paludismo en un hospital regional con asistencia a inmigrantes y viajeros Gemma Jiménez-Guerra, Consuelo Miranda-Casas, José María Navarro-Marí, José Gutiérrez-Fernández	113

Contents



REVISTA ESPAÑOLA DE Quimioterapia

Volume 28
Number 2
April 2015

Review	10 years of tigecycline and still in full force José Barberán, Santiago Salso, Almudena Alhambra	61
Originals	An analysis of the association between genotype and antimicrobial resistance in methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> clinical isolates Vicente Agadero, Carmen González-Velasco, Ana Vindel, Miguel González-Velasco, Juan José Moreno	79
	Detection of unusual uropathogens during a period of three years in a regional hospital Cristina Gómez-Camarasa, Carmen Liébana-Martos, José María Navarro-Marí, José Gutiérrez-Fernández	86
	Mortality among methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> carriers in long-term care facilities Ester Vendrell, Josep A Capdevila, Pilar Barrufet, Lluís Force, Goretti Sauca, Encarna Martínez, Elisabet Palomera, Mateu Serra-Prat, Jordi Cornudella, Annabel Llopis, M ^a Asunción Robledo, Crisóstomo Vázquez	92
	Phenotypic methods for detection of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> Gertrudis Horna, Lizeth Astocondor, Jan Jacobs, Coralith García	98
	Genotypic and phenotypic diversity in <i>Enterococcus faecalis</i>: is agar invasion a pathogenicity score? Fabio Cafini, Fernando Gómez-Aguado, María Teresa Corcuera, Carmen Ramos, Pedro Bas, Luis Collado, María Luisa Gómez-Lus, José Prieto	101
Letters to the editor	Emergence of daptomycin-resistant <i>Enterococcus faecium</i> in a critically ill patient with postoperative intra-abdominal sepsis Frederic Ballester, Isabel Pujol, Pitter Cueto, Conxita Rovira, Simona Iftimie, Jordi Camps	109
	<i>Helicobacter cinaedi</i>-associated bacteremia in hepatitis C patient under triple therapy Beatriz Lacruz, María Pilar Huarte, Gregorio Tiberio, Luis Torroba, Iván Quispe	111
	Diagnosis of malaria in a regional hospital with assistance to immigrants and travelers Gemma Jiménez-Guerra, Consuelo Miranda-Casas, José María Navarro-Marí, José Gutiérrez-Fernández	113

Mycamine® erradica las principales especies de *Candida*¹⁻³



Mycamine® es igual de eficaz que caspofungina y anfotericina B liposomal^{4,5} y menos nefrotóxico que anfotericina-B liposomal⁵

Mycamine® no requiere dosis de carga, alcanzando concentraciones terapéuticas desde la primera dosis^{6,7}

Mycamine® ha demostrado un perfil de seguridad clínica favorable en el análisis conjunto de más de 3.000 pacientes incluidos en el desarrollo clínico⁸

Mycamine® es la única equinocandina con indicación en cualquier edad pediátrica, incluidos neonatos⁹⁻¹¹

Bibliografía: 1. Espinel-Ingroff A. Rev Iberoam Micol 2003; 20: 121-136. 2. Ernst EJ, et al. Antimicrob Agent Chemother 2002; 46: 3846-3853. 3. Tawara S, et al. Antimicrob Agent Chemother 2000; 44: 57-62. 4. Pappas PG, et al. Clin Infect Dis 2007; 45: 883-893. 5. Kuse ER, et al. Lancet 2007;369:1519-27. 6. Cross SA, Scott LJ. Drugs 2008;68:225-2255. 7. Hiemenz, et al. Antimicrob Agents and Chemother, Apr. 2005, p. 1331-1336. 8. Comely OA, et al. Expert Opin Drug Saf 2011;10:171-83. 9. Ficha técnica Mycamine® (micafungina). Astellas Pharma. 10. Ficha técnica Cancidas® (caspofungina). Merck Sharp & Dohme Limited. 11. Ficha técnica Ecalta® (anidulafungina). Pfizer.

*p < 0,0001

1. NOMBRE DEL MEDICAMENTO. Mycamine 50 mg polvo para solución para perfusión. Mycamine 100 mg polvo para solución para perfusión. **2. COMPOSICIÓN CUALITATIVA Y CUANTITATIVA.** Mycamine 50 mg: Cada vial contiene 50 mg de micalfungina (como sal sódica). Tras su reconstitución, cada ml contiene 10 mg de micalfungina (como sal sódica). Mycamine 100 mg: Cada vial contiene 100 mg de micalfungina (como sal sódica). Tras su reconstitución, cada ml contiene 20 mg de micalfungina (como sal sódica). Para consultar la lista completa de excipientes, ver sección 5.1. **3. FORMA FARMACÉUTICA.** Polvo para solución para perfusión. Polvo blanco compacto. **4. DATOS CLÍNICOS. 4.1 Indicaciones terapéuticas.** Mycamine está indicado para: **Adultos, adolescentes \geq 16 años y pacientes de edad avanzada.** Tratamiento de la candidiasis invasiva. Tratamiento de la candidiasis esofágica en los pacientes en los que la terapia intravenosa es adecuada. Profilaxis de la infección por *Candida* en pacientes sometidos a trasplante alogénico de células precursoras hematopoyéticas o en pacientes que se espera que puedan presentar neutropenia (recuento absoluto de neutrófilos $<$ 500 células/microlitro(μ l)) durante 10 o más días. **Niños (neonatos incluidos) y adolescentes $<$ 16 años.** Tratamiento de la candidiasis invasiva. Profilaxis de la infección por *Candida* en pacientes sometidos a trasplante alogénico de células precursoras hematopoyéticas o en pacientes que se espera que puedan presentar neutropenia (recuento absoluto de neutrófilos $<$ 500 células/ μ l) durante 10 o más días. La decisión sobre el uso de Mycamine debe tomarse teniendo en cuenta el riesgo potencial de desarrollo de tumores hepáticos (ver sección 4.4). Por lo tanto, Mycamine debe usarse solo cuando no resulte adecuado el uso de otros antifúngicos. **4.2 Posología y forma de administración.** Hay que prestar atención a las directrices nacionales/oficiales sobre el uso adecuado de antifúngicos. El tratamiento con Mycamine debe ser iniciado por un médico con experiencia en el tratamiento de infecciones fúngicas. Las muestras para cultivos fúngicos y otros estudios de laboratorio relevantes (incluida la anatomía patológica) deben obtenerse antes de iniciar la terapia, a fin de aislar e identificar el/los organismo/s causante/s. La terapia podrá establecerse antes de conocerse los resultados de los cultivos y de los otros estudios de laboratorio. Sin embargo, una vez disponibles estos resultados, debe ajustarse la terapia antifúngica según corresponda. **Posología.** La pauta

o a alguno de los excipientes incluidos en la sección 5.1.

Efectos hepáticos: En ratas, tras un periodo de tratamiento de 3 meses o superior se observó el desarrollo de focos de alteración hepatocitaria (FAH) y de tumores hepatocelulares. El supuesto umbral para el desarrollo de tumores en ratas se encontraba aproximadamente en el rango de la exposición clínica. Se debe tener en cuenta la relevancia de este hallazgo para el uso terapéutico en humanos. Hay que monitorizar estrechamente la función hepática durante el tratamiento con micalfungina. Para minimizar el riesgo de regeneración adaptativa y la potencial formación posterior de un tumor hepático, se recomienda interrumpir cuanto antes el tratamiento si los niveles de alanina aminotransferasa/aspartato aminotransferasa (ALAT/ASAT) se incrementan de forma significativa y persistente. El tratamiento con micalfungina debe llevarse a cabo en base a una evaluación cuidadosa de la relación beneficio/riesgo, particularmente en los pacientes que padecen una insuficiencia hepática grave o una insuficiencia hepática crónica con procesos preneoplásicos comprobados, como fibrosis hepática avanzada, cirrosis, hepatitis vírica, trastorno hepático neonatal o defecto enzimático congénito, o que están recibiendo un tratamiento concomitante con propiedades hepatotóxicas o genotóxicas.

4.4 Advertencias y precauciones especiales de empleo.

El tratamiento con micalfungina se asoció con un deterioro significativo de la función hepática (incremento de ALAT, ASAT o de la bilirrubina total $>$ 3 veces el límite superior del rango normal (LSN)) tanto en voluntarios sanos como en pacientes. En algunos pacientes se han notificado alteraciones hepáticas más graves, hepatitis o fracaso hepático con casos mortales. Los pacientes pediátricos menores de un año, tienen más probabilidad de sufrir una lesión hepática (ver sección 4.8). **Reacciones anafilácticas.** Durante la administración de micalfungina pueden producirse reacciones anafilácticas/anafilactoides, incluido el shock anafiláctico. Si se producen estas reacciones, debe suspenderse la perfusión de micalfungina y administrarse el tratamiento adecuado. **Reacciones cutáneas.** Se han notificado reacciones cutáneas exfoliativas, como síndrome de Stevens-Johnson y necrólisis epidérmica tóxica. Si los pacientes presentan exantema, deben ser cuidadosamente monitorizados, y si las lesiones progresan, debe suspenderse el tratamiento con micalfungina. **Hemólisis.** Se han notificado casos raros de hemólisis, incluyendo hemólisis intravascular aguda o anemia hemolítica, en pacientes tratados con micalfungina. Los pacientes con datos clínicos o de laboratorio de hemólisis durante el tratamiento con micalfungina deben ser cuidadosamente monitorizados para detectar cualquier empeoramiento de estas condiciones hemolíticas, y para evaluar la relación beneficio/riesgo de continuar con el tratamiento con micalfungina. **Efectos renales.** Micalfungina puede causar alteraciones renales, fracaso renal y resultados anómalos en las pruebas de función renal. Los pacientes deben ser cuidadosamente monitorizados para detectar cualquier empeoramiento de la función renal. **Interacciones con otros medicamentos.** La coadministración de micalfungina y anfotericina B desoxicolato debe usarse solo cuando los beneficios superan claramente a los riesgos, con una estrecha monitorización de las toxicidades de anfotericina B desoxicolato (ver sección 4.5). En los pacientes tratados con sirolimus, nifedipino o itraconazol en combinación con Mycamine debe monitorizarse la toxicidad de sirolimus, nifedipino o itraconazol, y, si es necesario, debe reducirse la dosis de estos medicamentos (ver sección 4.5). **Población pediátrica.** La incidencia de algunas reacciones adversas fue superior en los pacientes pediátricos que en los adultos (ver sección 4.8). **4.5 Interacción con otros medicamentos y otras formas de interacción.** Micalfungina tiene un escaso potencial de interacción con los medicamentos metabolizados a través de las vías mediadas por el citocromo CYP3A. Se llevaron a cabo estudios de interacciones farmacológicas en individuos sanos para evaluar el potencial de interacción entre micalfungina y micofenolato mofetilo, ciclosporina, tacrolimus, prednisona, sirolimus, nifedipino, fluconazol, ritonavir, rifampicina, itraconazol, voriconazol y anfotericina B. En estos estudios no se observaron alteraciones farmacocinéticas de micalfungina. No se precisaron ajustes de la dosis de micalfungina cuando estos medicamentos se administran de forma concomitante. La exposición (AUC) de itraconazol, sirolimus y nifedipino se incrementó ligeramente en presencia de micalfungina (22%, 21% y 18%, respectivamente). La coadministración de micalfungina y anfotericina B desoxicolato se asoció con un incremento del 30% de la exposición a anfotericina B desoxicolato. Ya que esto puede tener importancia clínica, esta administración debe usarse solo cuando los beneficios superan claramente a los riesgos, con una estrecha monitorización de las toxicidades de anfotericina B desoxicolato (ver sección 4.4). En los pacientes tratados con sirolimus, nifedipino o itraconazol en combinación con Mycamine debe monitorizarse la toxicidad de sirolimus, nifedipino o itraconazol, y, si es necesario, debe reducirse la dosis de estos medicamentos (ver sección 4.4). **4.6 Fertilidad, embarazo y lactancia.** Embarazo. No existen datos suficientes sobre la utilización de micalfungina en mujeres embarazadas. En estudios en animales, micalfungina cruzó la barrera placentaria y se observó toxicidad reproductiva. Se desconoce el riesgo potencial en seres humanos. Mycamine no debería utilizarse durante el embarazo excepto si fuese claramente necesario. **Lactancia.** Se desconoce si micalfungina se excreta en la leche humana materna. Los estudios realizados en animales han demostrado la excreción de micalfungina en la leche materna. La decisión de continuar o interrumpir el periodo de lactancia o de continuar o interrumpir el tratamiento con Mycamine debe tomarse teniendo en cuenta el beneficio que supone la lactancia para el neonato y el beneficio que supone Mycamine para la madre. **Fertilidad.** En estudios en animales se ha observado toxicidad testicular. Micalfungina puede alterar potencialmente la fertilidad masculina en humanos. **4.7 Efectos sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas.** No se han realizado estudios de los efectos del medicamento sobre la capacidad para conducir y utilizar máquinas. No obstante, pueden aparecer reacciones adversas que pueden influir sobre la capacidad de conducir y usar máquinas (ver sección 4.8). **4.8 Reacciones adversas. Resumen del perfil de seguridad.** El perfil de seguridad de micalfungina se basa en los ensayos clínicos realizados con 3028 pacientes tratados con micalfungina: 2002 pacientes con infecciones por *Candida* (incluyendo candidemia, candidiasis invasiva y candidiasis esofágica), 375 pacientes con aspergilosis invasiva (principalmente infecciones refractarias) y 651 pacientes en profilaxis de infecciones sistémicas fúngicas. Los pacientes tratados con micalfungina en los ensayos clínicos representan una población crítica de pacientes con enfermedades graves, que requieren múltiples fármacos, incluyendo quimioterapia anti-neoplásica, inmunosupresores sistémicos potentes y antibióticos de amplio espectro. Estos pacientes presentaban una amplia variedad de enfermedades subyacentes complejas, como neoplasias hematológicas e infección por VIH, o eran receptores de trasplantes y/o estaban siendo tratados en unidades de cuidados intensivos. Los pacientes tratados de forma profiláctica con micalfungina estuvieron sometidos a un trasplante de células precursoras hematopoyéticas (TCPH) y presentaban alto riesgo de contraer infecciones fúngicas. En total, el 32,2% de los pacientes presentaron reacciones adversas. Las reacciones adversas notificadas con mayor frecuencia fueron náuseas (2,8%), incremento de la fosfatasa alcalina en sangre (2,7%), flebitis (2,5%), principalmente en pacientes infectados por VIH con vías periféricas), vómitos (2,5%) e incremento de la aspartato aminotransferasa (2,3%). No se observaron diferencias clínicamente significativas cuando se analizaron los datos de seguridad en función del sexo o la raza. **Tabla de reacciones adversas.** En la tabla 1 se enumeran las reacciones adversas en función de la clasificación por órganos y sistemas, y de acuerdo con el término preferido por MedDRA. Las reacciones adversas se enumeran en orden decreciente de gravedad dentro de cada intervalo de frecuencia. **Descripción de algunas reacciones adversas seleccionadas. Posibles síntomas de tipo alérgico.** En los ensayos clínicos se han notificado síntomas como exantema y rigidez. La mayoría fueron de intensidad leve a moderada, y no limitaron el tratamiento. Durante la terapia con micalfungina y solo en pacientes con enfermedades subyacentes graves (como SIDA en fase avanzada, neoplasias), que requieren múltiples medicaciones concomitantes, se notificaron reacciones graves de forma poco frecuente (p. ej. reacción anafiláctica 0,2%, 6/3028). **Reacciones hepáticas adversas.** La incidencia global de reacciones hepáticas adversas en los pacientes tratados con micalfungina en ensayos clínicos fue de 8,6% (260/3028). La mayoría de las reacciones hepáticas adversas fueron leves y moderadas. Las reacciones más frecuentes fueron el incremento de fosfatasa alcalina (FA) (2,7%), ASAT (2,3%), ALAT (2,0%), bilirrubina en sangre (1,6%) y las alteraciones en las pruebas de función hepática (1,5%). Algunos pacientes (1,1%; 0,4% graves) interrumpieron el tratamiento debido a algún acontecimiento hepático. De forma poco frecuente, se observaron casos de insuficiencia hepática grave (ver sección 4.4). **Reacciones locales en el lugar de la inyección.** Ninguna de las reacciones adversas en el lugar de la inyección limitó el tratamiento. **Población pediátrica.** La incidencia de algunas reacciones adversas (enumeradas en la siguiente tabla) fue superior en los pacientes pediátricos que en los adultos. Además, los pacientes pediátricos menores de

Uso en pacientes adultos, adolescentes \geq 16 años y pacientes de edad avanzada.

Indicación	Peso $>$ 40 kg	Peso \leq 40 kg
Tratamiento de la candidiasis invasiva	100 mg/día*	2 mg/kg/día*
Tratamiento de la candidiasis esofágica	150 mg/día	3 mg/kg/día
Profilaxis de la infección por <i>Candida</i>	50 mg/día	1 mg/kg/día

*Si la respuesta del paciente no es la adecuada (por ejemplo, si los cultivos siguen siendo positivos o si su cuadro clínico no mejora), la dosis puede incrementarse a 200 mg/día en los pacientes que pesen $>$ 40 kg o 4 mg/kg/día en los pacientes que pesen \leq 40 kg.

posológica de Mycamine depende del peso del paciente de acuerdo con las siguientes tablas: **Duración del tratamiento.** Candidiasis invasiva: La duración del tratamiento para la infección por *Candida* debe ser, como mínimo, de 14 días. El tratamiento antifúngico debe continuarse durante al menos una semana más tras la obtención de dos cultivos sanguíneos consecutivos negativos, y después de la resolución de los síntomas y signos clínicos de la infección. Candidiasis esofágica: Para el tratamiento de la candidiasis esofágica, Mycamine debe administrarse durante al menos una semana tras la resolución de los síntomas y signos clínicos. Profilaxis de las infecciones por *Candida*: Para la profilaxis de la infección por *Candida*, Myca-

Uso en niños (neonatos incluidos) y adolescentes $<$ 16 años.

Indicación	Peso corporal $>$ 40 kg	Peso corporal \leq 40 kg
Tratamiento de la candidiasis invasiva	100 mg/día*	2 mg/kg/día*
Profilaxis de la infección por <i>Candida</i>	50 mg/día	1 mg/kg/día

*Si la respuesta del paciente no es la adecuada (por ejemplo, si los cultivos siguen siendo positivos o si su cuadro clínico no mejora) la dosis puede incrementarse a 200 mg/día en pacientes que pesen $>$ 40 kg o a 4 mg/kg/día en pacientes que pesen \leq 40 kg.

mine debe administrarse durante al menos una semana tras la recuperación del recuento de neutrófilos. **Duración del tratamiento.** Candidiasis invasiva: La duración del tratamiento para la infección por *Candida* debe ser, como mínimo, de 14 días. El tratamiento antifúngico debe continuarse durante al menos una semana tras la obtención de dos cultivos sanguíneos consecutivos negativos, y después de la resolución de los síntomas y signos clínicos de la infección. Profilaxis de las infecciones por *Candida*: Para la profilaxis de la infección por *Candida*, Mycamine debe administrarse durante al menos una semana tras la recuperación del recuento de neutrófilos. La experiencia sobre el uso de Mycamine en pacientes menores de dos años es limitada. **Sexo/raza.** No se precisa ningún ajuste de la dosis en función del sexo o de la raza. **Pacientes con insuficiencia hepática.** No se precisa ningún ajuste de la dosis en pacientes con insuficiencia hepática leve o moderada. En la actualidad no se dispone de suficientes datos relativos al uso de Mycamine en pacientes con insuficiencia hepática grave y, por tanto, no se recomienda su uso en dichos pacientes (ver sección 4.4). **Pacientes con insuficiencia renal.** No se precisa ningún ajuste de la dosis en pacientes con insuficiencia renal. **Forma de administración.** Tras su reconstitución y dilución, la solución se administrará mediante perfusión intravenosa durante aproximadamente 1 hora. Las perfusiones realizadas con mayor rapidez suelen desencadenar con más frecuencia reacciones mediadas por histamina. Ver sección 5.6 para leer las instrucciones para la reconstitución. **4.3 Contraindicaciones.** Hipersensibilidad al principio activo, a otras equinocandinas

1 año de edad experimentaron con el doble de frecuencia un incremento en ALAT, ASAT y FA que los pacientes pediátricos de mayor edad (ver sección 4.4). La razón más probable para estas diferencias fueron las diferentes enfermedades que sufren estos pacientes en comparación con los adultos u otros pacientes pediátricos de mayor edad observadas en los ensayos clínicos. Al inicio del ensayo, la proporción de pacientes pediátricos con neutropenia era varias veces superior a la de los pacientes adultos (40,2% y 7,3% de niños y adultos, respectivamente), al igual que pacientes TCOH alométricos (29,4% y 13,4% respectivamente) y tumores hematológicos (29,1% y 8,7%, respectivamente). Trastornos de la sangre y del sistema linfático: *frecuentes*: trombocitopenia; Trastornos cardíacos: *poco frecuentes*: taquicardia; Trastornos vasculares: *frecuentes*: hipertensión, hipotensión; Trastornos hepatobiliares: *frecuentes*: hiperbilirrubinemia, hepatomegalia; Trastornos renales y urinarios: *frecuentes*: fracaso renal agudo, incremento de la urea en sangre. **Notificación de sospechas de reacciones adversas.** Es importante notificar sospechas de reacciones adversas al medicamento tras su autorización. Ello permite una supervisión continuada de la relación beneficio/riesgo del medicamento. Se invita a los profesionales sanitarios a notificar las sospechas de reacciones adversas a través del Sistema Español de Farmacovigilancia de Medicamentos de Uso Humano: www.notificaram.es. **4.9 Sobre dosis.** En los ensayos clínicos, se han administrado dosis diarias repetidas de hasta 8 mg/kg (dosis total máxima de 896 mg) a pacientes adultos, sin describirse una toxicidad limitante de la dosis. Se describió un error en la administración de la dosis (7,8 mg/kg/día durante 7 días) en un paciente recién nacido. No se observaron reacciones adversas asociadas a esta dosis elevada. No se dispone de experiencia relacionada con sobredosis de micafungina. En caso de sobredosis, se deberá administrar un tratamiento sintomático y medidas generales de apoyo. Micafungina se une fuertemente a las proteínas y no es dializable. **5. DATOS FARMACÉUTICOS. 5.1 Lista de excipientes.** Lactosa monohidrato. Ácido cítrico anhidro (para ajustar el pH). Hidróxido sódico (para ajustar el pH). **5.2 Incompatibilidades.** Este medicamento no debe mezclarse o inyectarse simultáneamente con otros, excepto con los mencionados en la sección 5.6. **5.3 Período de validez.** Vial intacto (sin abrir): 3 años. Concentrado reconstituido en el vial: Se ha comprobado la estabilidad química y física del producto en uso durante 48 horas a 25°C, cuando se reconstituye con solución de cloruro sódico 9 mg/ml (0,9%) para perfusión o con solución de glucosa 50 mg/ml (5%) para perfusión. **Solución diluida para perfusión:** Se ha comprobado que la estabilidad química y física que permite su uso es de 96 horas a 25°C, protegida de la luz, cuando se diluye con solución de cloruro sódico 9 mg/ml (0,9%) para perfusión o con solución de glucosa 50 mg/ml (5%) para perfusión. Mycamine no contiene conservantes. Desde el punto de vista microbiológico, las soluciones diluidas y reconstituidas deben utilizarse inmediatamente. Si no se usan de forma inmediata, los tiempos y condiciones de conservación previas a su uso son responsabilidad del usuario, y no deberían superar las 24 horas a una temperatura entre 2 y 8 °C, a menos que la reconstitución y la dilución se hayan producido en condiciones asepticas controladas y validadas. **5.4 Precauciones especiales de conservación.** **Viales intactos (sin abrir):** Este medicamento no requiere condiciones especiales de conservación. Para las condiciones de conservación tras la reconstitución y dilución del medicamento, ver sección 5.3. **5.5 Naturaleza y contenido del envase.** Vial de vidrio Tipo I de 10 ml con tapón de goma de isobutileno-isopreno (PTFE - laminado) y con caperuza "flip-off". El vial está precintado con una película protectora UV. Se suministra en cajas de 1 vial. **5.6 Precauciones especiales de eliminación y otras manipulaciones.** La eliminación del medicamento no utilizado y de todos los materiales que hayan estado en contacto con él se realizará de acuerdo con la normativa local. Mycamine no debe mezclarse o inyectarse simultáneamente con otros medicamentos excepto aquellos mencionados más abajo. Mycamine se reconstituye y diluye, utilizando técnicas asepticas a temperatura ambiente, tal y como se indica a continuación: **1.** La caperuza plástica debe retirarse del vial y el tapón debe desinfectarse con alcohol. **2.** Deben inyectarse lenta y asepticamente dentro de cada vial junto a la pared interna, 5 ml de solución de cloruro sódico 9 mg/ml (0,9%) para perfusión o solución de glucosa 50 mg/ml (5%) para perfusión (tomados de una botella/bolsa de 100 ml). Aun-

que el concentrado hará espuma, debe tenerse especial cuidado en minimizar la cantidad de espuma generada. Debe reconstituirse un número suficiente de viales de Mycamine para obtener la dosis necesaria en mg (consultar la tabla a continuación). **3.** El vial debe girarse con suavidad. **NO DEBE AGITARSE.** El polvo se disolverá completamente. El concentrado debe usarse inmediatamente. El vial es para un único uso. Por lo tanto, el concentrado reconstituido no utilizado debe desecharse inmediatamente. **4.** Todo el concentrado reconstituido debe retirarse de cada vial y devolverse a la botella/bolsa de perfusión de la que fue tomado inicialmente. La solución diluida para perfusión debe utilizarse inmediatamente. Se ha comprobado que la estabilidad química y física permite el uso del medicamento durante 96 horas a 25°C siempre que esté protegido de la luz, y la dilución se realice tal y como se ha descrito anteriormente. **5.** La botella/bolsa para la perfusión debe invertirse cuidadosamente para dispersar la solución diluida pero **NO** debe agitarse para evitar la formación de espuma. No debe utilizarse la solución si está turbia o se ha formado precipitado. **6.** La botella/bolsa que contiene la solución diluida para perfusión debe introducirse en una bolsa opaca con precinto para protegerla de la luz. Tras la reconstitución y dilución, la solución se debe administrar mediante perfusión intravenosa durante aproximadamente 1 hora. **6. TITULAR DE LA AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN.** Astellas Pharma Europe B.V. Sylviusweg 62, 2333 BE Leiden, Países Bajos **7. NÚMERO(S) DE AUTORIZACIÓN DE COMERCIALIZACIÓN.** EU/1/08/448/001 (Mycamine 50 mg) y EU/1/08/448/002 (Mycamine 100 mg). **8. FECHA DE LA PRIMERA AUTORIZACIÓN/RENOVACIÓN DE LA AUTORIZACIÓN.** Fecha de la primera autorización: 25/abril/2008. Fecha de la última renovación: 20/diciembre/2012. **9. FECHA DE LA REVISIÓN DEL TEXTO.** 12/2013. **10. PRESENTACIONES Y PRECIO VENTA AL PÚBLICO (IVA).** Mycamine 50 mg, 1 vial, polvo para solución para perfusión: 275,81€. Mycamine 100 mg, 1 vial, polvo para solución para perfusión: 498,66 €. **11. CONDICIONES DE DISPENSACIÓN.** Con receta médica. Uso hospitalario. Para más información, consulte la ficha técnica completa. La información detallada de este medicamento está disponible en la página web de la Agencia Europea de Medicamentos: <http://www.ema.europa.eu>.

Preparación de la solución para perfusión				
Dosis (mg)	Vial de Mycamine a utilizar (mg/vial)	Volumen de cloruro sódico (0,9%) o de glucosa (5%) a añadir en cada vial	Volumen (concentración) de polvo reconstituido	Perfusión estándar (hasta 100 ml) Concentración final
50	1 x 50	5 ml	aprox. 5 ml (10 mg/ml)	0,5 mg/ml
100	1 x 100	5 ml	aprox. 5 ml (20 mg/ml)	1,0 mg/ml
150	1 x 100 + 1 x 50	5 ml	aprox. 10 ml	1,5 mg/ml
200	2 x 100	5 ml	aprox. 10 ml	2,0 mg/ml

Tabla 1. Reacciones adversas

Clasificación de Órganos y Sistemas	Frecuente ≥ 1/100 a < 1/10	Poco frecuente ≥ 1/1000 a < 1/100	Rara ≥ 1/10.000 a < 1/1000	Desconocida (la frecuencia no puede estimarse a partir de los datos disponibles)
Trastornos de la sangre y del sistema linfático	leucopenia, neutropenia, anemia	pancitopenia, trombocitopenia, eosinofilia, hipoalbuminemia	anemia hemolítica, hemólisis (ver sección 4.4)	coagulación intravascular diseminada
Trastornos del sistema inmune		reacción anafiláctica/anafilactoide (ver sección 4.4), hipersensibilidad		
Trastornos endocrinos		hiperhidrosis		
Trastornos del metabolismo y la nutrición	hipotasemia, hipomagnesemia, hipocalcemia	hiponatremia, hiperpotasemia, hipofosfatemia, anorexia		
Trastornos psiquiátricos		insomnio, ansiedad, confusión		
Trastornos del sistema nervioso	cefalea	somnolencia, temblor, mareo, alteración del sentido del gusto		
Trastornos cardíacos		taquicardia, palpitaciones, bradicardia		
Trastornos vasculares	flebitis	hipotensión, hipertensión, sofocos		shock
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos		disnea		
Trastornos gastrointestinales	náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal	dispepsia, estreñimiento		
Trastornos hepatobiliares	incremento de la fosfatasa alcalina en sangre, incremento de la aspartato aminotransferasa, incremento de la alanina aminotransferasa, incremento de la bilirrubina en sangre (incluyendo hiperbilirrubinemia), pruebas hepáticas funcionales anómalas	fracaso hepático (ver sección 4.4), incremento de la gammaglutamiltransferasa, ictericia, colestasis, hepatomegalia, hepatitis		lesión hepatocelular con casos mortales (ver sección 4.4)
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo	exantema	urticaria, prurito, eritema		erupción cutánea tóxica, eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson, necrólisis epidérmica tóxica (ver sección 4.4)
Trastornos renales y urinarios		incremento de la creatinina sérica, incremento de la urea sérica, empeoramiento de la insuficiencia renal		alteración renal (ver sección 4.4), fracaso renal agudo
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración	pirexia, rigidez	trombosis en el lugar de inyección, inflamación en el lugar de perfusión, dolor en el lugar de inyección, edema periférico		
Exploraciones complementarias		incremento de la lactato deshidrogenasa en sangre		

José Barberán
Santiago Salso
Almudena Alhambra

Tigeciclina: 10 años de historia y en plena vigencia

Hospital Madrid Universitario Montepríncipe. Universidad CEU San Pablo. Madrid

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS

Tigeciclina es un derivado de minociclina con un radical butilglicilamido en el anillo D de la molécula (figura 1) que le confiere una afinidad por la subunidad 30S del ribosoma bacteriano cinco veces mayor y por tanto una capacidad intrínseca superior para inhibir la síntesis proteica mediante el bloqueo de la entrada del ADN de transferencia en el sitio A^{1,2}. Este radical también impide la captación del fármaco por la mayoría de las proteínas de las bombas de flujo que afectan a los compuestos de su mismo grupo, generalmente asociadas a la hiperexpresión de un gen regulador^{3,4}. Este mecanismo de acción hace que tigeciclina no tenga resistencia cruzada con los fármacos más utilizados en las infecciones nosocomiales para grampositivos (vancomicina, daptomicina y linezolid) y gramnegativos (betalactámicos y aminoglucósidos)⁵.

La interpretación de las pruebas de sensibilidad se hace en función de los puntos de corte establecidos por la FDA (*Food and Drug Administration*) y el EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) que son similares con la excepción de los de las enterobacterias (CMI ≤ 2 mg/L para la FDA y CMI ≤ 1 mg/L para el EUCAST)⁶⁻⁸ (tablas 1 y 2). Además, el EUCAST ha establecido un punto de corte de sensibilidad no relacionado con la especie CMI $\leq 0,25$ mg/L (tabla 2)⁸. Estas diferencias hacen que en ocasiones una bacteria pueda considerarse sensible o resistente según el criterio que se elija.

El espectro de tigeciclina es uno de los más amplios⁹. Entre los cocos grampositivos se encuentran *Staphylococcus* spp. (sensibles y resistentes a metilina y *Staphylococcus aureus* con sensibilidad intermedia a vancomicina [VISA]), cuya CMI es la más baja de todos los antiestafilocócicos, *Enterococcus* spp., tanto *E. faecalis* como *E. faecium* (sensibles y resistentes a vancomicina), y *Streptococcus* spp. (sensibles y resistentes a penicilina y tetraciclinas) (tabla 3). La mayoría de las entero-

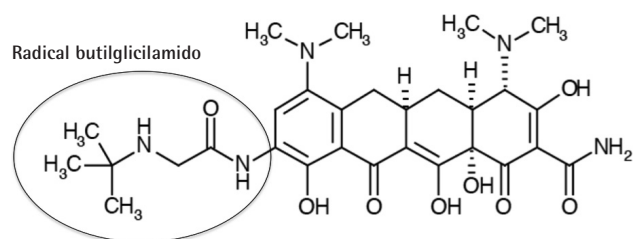


Figura 1 | Estructura molecular de tigeciclina

bacterias se inhiben con concentraciones entre 0,25 y 1 mg/L (inferiores a los puntos de corte establecidos) con independencia de que produzcan o no BLEE (betalactamasas de espectro extendido), ampC o carbapenemasas, y sean o no resistentes a quinolonas. Otro tanto ocurre para *Shigella* spp. y *Salmonella* spp. Sin embargo, su actividad es menor frente a *Proteus* spp., *Providencia* spp. y *Morganella morganii* ya que la CMI₉₀ se encuentra por encima del punto de corte más permisivo que es el de la FDA, por eso el EUCAST no considera a tigeciclina un antibiótico adecuado para el tratamiento de estos microorganismos. *Serratia marcescens* se sitúa en un punto intermedio entre *Escherichia coli* y *Morganella morganii* con una CMI₉₀ de 2-4 mg/L. Por lo que se refiere a bacilos gramnegativos no fermentadores el principal problema de actividad es *Pseudomonas aeruginosa*. Prácticamente más del 90% de las cepas no se inhiben con concentraciones de tigeciclina por debajo de los valores habituales de los puntos de corte de sensibilidad. Actualmente se considera un microorganismo con una resistencia intrínseca a tigeciclina que está mediada por la bomba de flujo MexXY^{9,10}. La situación de *Stenotrophomonas maltophilia* es bastante buena con más del 95% de las cepas sensibles (CMI ≤ 2 mg/L)^{11,12}. Asimismo, se considera que tigeciclina es razonablemente activa frente a *Acinetobacter baumannii* y algunas otras especies de *Acinetobacter*, con CMI₉₀ entre 0,5 y 2 mg/L⁹. Tigeciclina también es activa frente a algunos de los patógenos respiratorios como *Haemophilus influenzae* o *Moraxella catarrhalis*, y sobre *Neisseria* spp., sin influir el que sea sensible o resistente a tetraciclinas. Asimismo, se ha observado una acti-

Correspondencia:
José Barberán
Hospital Madrid Universitario Montepríncipe
Universidad CEU San Pablo
Madrid
E-mail: Barberan60@gmail.com

Tabla 1	Puntos de corte de tigeciclina de la FDA ^{6,7}					
	CMI (mg/L)			Halo (mm)		
	S	I	R	S	I	R
<i>S. aureus</i>	≤ 0,5	-	-	≥ 16	-	-
<i>Streptococcus</i> spp.	≤ 0,25	-	-	≥ 16	-	-
<i>E. faecalis</i>	≤ 0,25	-	-	≥ 16	-	-
Enterobacterias	≤ 2	4	≥ 8	≥ 16	15-18	≤ 14
Anaerobios	≤ 4	8	≥ 16	-	-	-

Tabla 2	Puntos de corte de tigeciclina del EUCAST ⁸				
	CMI (mg/L)		Halo (mm)		
	S	R	S	R	
<i>S. aureus</i>	≤ 0,5	> 0,5	≥ 18	< 18	
<i>Streptococcus</i> spp., distinto a <i>S. pneumoniae</i>	≤ 0,25	> 0,5	≥ 19	< 16	
<i>Enterococcus</i> spp.	≤ 0,25	> 0,5	≥ 18	< 15	
Enterobacterias ⁹	≤ 1	> 2	≥ 18	< 15	
No relacionado con la especie	≤ 0,25	> 0,5	-	-	

⁹ Salvo a *Proteus*, *Providencia* y *Morganella* spp.

vidad relativamente buena en *Eikenella corrodens* (tabla 4). De entre las bacterias anaerobias con relevancia clínica son en general sensibles *Clostridium difficile* y *Clostridium perfringens*, otras bacterias grampositivas y las del grupo *fragilis*, si bien no lo es tanto *Bacteroides fragilis* (tabla 5). Además, tigeciclina tiene buena actividad sobre micobacterias de crecimiento rápido (*Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium chelonae* y *Mycobacterium fortuitum*) sean sensibles o resistentes a tetraciclinas, *Chlamydothlyla pneumoniae*, *Mycoplasma hominis* y *Mycoplasma pneumoniae*. Pero es reducida frente a otras micobacterias como *Mycobacterium avium* complex, *Mycobacterium lentiflavum*, *Mycobacterium marinum* y *Mycobacterium kansasii*, y *Ureaplasma urealyticum*⁹ (tabla 6). Tigeciclina es más activa que minociclina sobre *Nocardia* spp., como ha demostrado un estudio con más de 50 aislados¹³. Lo mismo ocurre sobre corinebacterias y bacterias coreniformes, incluido *Rodococcus equi*, y *Listeria monocytogenes*¹⁴. La actividad de tigeciclina también es excelente en grupos de bacterias multirresistentes como enterobacterias productoras de BLEE, de betalactamasas ampC plasmídicas, carbapenemasas y carentes de porinas, no sensibles a muchos compuestos como quinolonas y betalactámicos¹⁵⁻¹⁷.

A. baumannii, por su multirresistencia, es una de las bacterias que mayor interés ha suscitado para ser tratadas con tigeciclina. En un estudio europeo en el que más del 60% de las cepas de *A. baumannii* estudiadas en nuestro país eran re-

sistentes a imipenem, la CMI de tigeciclina fue de 1 mg/L¹⁸. En otro trabajo en el que se han estudiado 5127 aislados de *Acinetobacter* spp., pertenecientes a 140 hospitales de 30 países de Norteamérica, Sudamérica, Europa y la región del pacífico de Asia, la sensibilidad global a tigeciclina (CMI ≤ 2 mg/L) fue de al menos el 90%. De las 60 muestras españolas más del 80% tenían una CMI ≤ 1 mg/L a tigeciclina y el 90% estaban incluidas cuando el punto de corte establecido era ≤ 2¹⁹. En un centro español (n= 142) el 88% de las cepas fueron sensibles a tigeciclina (CMI ≤ 2 mg/L)¹¹. En un estudio multicéntrico realizado en nuestro país posteriormente en 2010, con participación de 43 hospitales y en el que se analizaron 456 aislados de *Acinetobacter* spp., sólo el 24% eran resistentes a tigeciclina (sensible: CMI₉₀ ≤ 1 mg/L), frente a más del 80% a carbapenémicos y tetraciclinas²⁰. Sin embargo, la interpretación de estos datos publicados es controvertida derivada por un lado de la falta de definición de un punto de corte de sensibilidad, si bien en la mayoría de los estudios se aplican los aceptados por la FDA y EUCAST para las enterobacterias¹⁹, y por otro del problema metodológico que subyace en la determinación de la actividad *in vitro* de tigeciclina en *Acinetobacter* spp. ya que se han detectado variaciones considera-

bles en función del medio y condición²¹⁻²⁴. Bolmström et al. en un trabajo observaron que la determinación de la actividad de tigeciclina medida por Etest o microdilución eran prácticamente equivalentes²⁵. Pero estos resultados han sido cuestionados en estudios posteriores^{26,27}. En uno de ellos la concordancia entre estas técnicas se observó sólo en un pequeño número de casos y en la mayoría la CMI obtenida por Etest superaba en 2-8 diluciones a la alcanzada por microdilución²⁶. Por tanto, es posible que no sean ciertas las CMI de *A. baumannii* determinadas por Etest en muchos trabajos. Algo parecido ocurre también en este microorganismo al comparar la difusión en disco con la microdilución e incluso se han observado diferencias en la CMI entre varios medios sólidos^{21,23}. En general, parece que el método de microdilución es bastante fiable para establecer la CMI de *Acinetobacter* spp. a tigeciclina, y que los medios sólidos lo son menos o bastante menos, tanto en *Acinetobacter* spp. como en *Enterobacter* spp y *Serratia marcescens*^{28,29}. Las causas de estas variaciones no se conocen bien todavía, pero parece influir la oxidación de tigeciclina con el paso del tiempo en los medios de cultivo que la hacen menos activa con el consiguiente aumento de la CMI³⁰. Asimismo, se ha observado que el contenido de ciertos cationes en los medios de cultivo, en particular de manganeso, también hace aumentar la CMI de tigeciclina. El antibiótico y el manganeso forman un complejo que reduce la actividad *in vitro* del primero^{31,32}. Desde el punto de vista clínico, el cambio de la CMI de tigeciclina en 2-4 veces, dependiendo del método o de sus condiciones, tiene un enor-

Tabla 3		Actividad de tigeciclina frente a grampositivos ⁹
Microorganismo		CMI ₉₀ (mg/L)
<i>Staphylococcus aureus</i>		0,125-1
SASM		0,25-0,5
SARM		0,25-1
VISA		0,5
<i>Staphylococcus coagulasa-negativa</i>		0,25-1
Sensible a meticilina		0,25-1
Resistente a meticilina		0,25-1
<i>Enterococcus faecalis</i>		0,13-0,5
<i>Enterococcus faecium</i>		0,13-0,25
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		≤0,02-0,5
Sensible a penicilina		0,13-0,25
Intermedio a penicilina		0,06-0,5
Resistente a penicilina		0,13-0,25
Sensible a tetraciclina		0,03
Resistente a tetraciclina		0,03
<i>Streptococcus</i> grupo A		0,06-0,25
<i>Streptococcus</i> grupo B		0,06-0,25
<i>Streptococcus viridans</i>		0,03-0,5
Sensible a penicilina		0,25
Resistente a penicilina		0,06
Sensible a tetraciclina		0,06
Resistente a tetraciclina		0,13

SASM: *S. aureus* sensible a meticilina

SARM: *S. aureus* resistente a meticilina

VISA: *S. aureus* con sensibilidad intermedia a vancomicina

me impacto final a la hora de considerar que la bacteria sea sensible o resistente.

En cuanto a la evolución temporal de la actividad *in vitro* de tigeciclina sobre los microorganismos (grampositivos y gramnegativos aerobios, y anaerobios), los estudios de vigilancia muestran estabilidad, de tal manera que las tasas de resistencia no suelen superar el 5%, excepto en *A. baumannii*³³⁻⁴⁰. No obstante, en enterobacterias, particularmente en *Klebsiella pneumoniae*, se han comunicado cifras mayores en algunos trabajos clínicos⁴¹⁻⁴⁸.

La resistencia bacteriana a tigeciclina está mediada generalmente por bombas de flujo de amplio espectro o multifármacos, algunas de ellas pertenecientes a la familia resistencia-nodulación-división y con frecuencia se asocian a la hiperexpresión de un gen regulador^{44,48}. Se encuentran en distintas especies de bacterias, con resistencia intrínseca a tigeciclina como *P. aeruginosa* (MexXY-OprM)¹⁰ y *P. mirabilis* (AcrAB)⁴⁹, y excepcionalmente en microorganismos inicialmente sensibles

Tabla 4		Actividad de tigeciclina frente a gramnegativos ⁹
Microorganismo		CMI ₉₀ (mg/L)
<i>E. coli</i>		0,25-1
BLEE (-)		0,25-1
BLEE (+)		0,5-1
Sensible a ciprofloxacino		1
Resistente a ciprofloxacino		1
<i>K. pneumoniae</i>		1-2
BLEE (-)		1-2
BLEE (+)		1-2
<i>M. morgani</i>		4
<i>P. mirabilis</i>		8
<i>P. vulgaris</i>		4
<i>Providencia</i> spp.		8
<i>Shigella</i> spp.		0,5
<i>Salmonella</i> spp.		1
<i>Citrobacter</i> spp.		0,5-2
<i>Enterobacter</i> spp.		1-2
<i>S. marcescens</i>		2-4
<i>S. maltophilia</i>		2-4
<i>P. aeruginosa</i>		16-32
<i>Acinetobacter</i> spp.		0,5-8
<i>B. cepacia</i>		4-32
<i>H. influenzae</i>		0,5-2
<i>M. catarrhalis</i>		0,13-0,5
<i>N. gonorrhoeae</i>		0,13-1
Sensible a tetraciclina		0,13
Resistente a tetraciclina		0,5
<i>E. corrodens</i>		2

BLEE: betalactamasa de espectro extendido

como *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* y *Salmonella enterica* (sistema AcrAB)^{4,50,51}, y *S. marcescens* (SdeXY)⁵². En el caso de *Acinetobacter* spp. la resistencia se asocia a una sobreexpresión de los sistemas AdeABC, AdeIJK y TetA⁵³⁻⁵⁶. El sistema TetX se ha implicado en la resistencia observada en *Bacteroides*^{48,57}. Los mecanismos de resistencia de los grampositivos a tigeciclina son menos conocidos, aunque se ha relacionado a *S. aureus* con el sistema MATE⁵⁸. Las resistencias por medio de estos mecanismos pueden ser seleccionados por otros antibióticos, por lo que la reserva del uso de tigeciclina no preserva su futura actividad⁵⁹.

En estudios *in vitro*, la combinación de tigeciclina con

Tabla 5 Actividad de tigeciclina frente a anaerobios⁹

Microorganismo	CMI ₉₀ (mg/L)
<i>B. fragilis</i>	2
<i>Bacteroides</i> del grupo <i>fragilis</i>	0,13-2
<i>C. perfringens</i>	0,25-1
<i>C. difficile</i>	0,03-0,13
<i>P. acnes</i>	0,06
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	0,03-0,25
<i>Fusobacterium</i> spp.	0,06
<i>Prevotella</i> spp.	0,06-1
<i>Porphyromonas</i> spp.	0,06

rifampicina, amikacina, colistina, cotrimoxazol, daptomicina y algunos betalactámicos ha puesto de manifiesto sinergia en alrededor del 50% en grampositivos y gramnegativos, incluido *Acinetobacter* spp. Raramente se ha observado antagonismo⁶⁰⁻⁶⁵. En biopelículas estafilocócicas, tigeciclina se ha mostrado muy activa con CMI de las más bajas, eficiente en la inhibición de estas estructuras y sinérgica con rifampicina y N-acetilcisteína⁶⁶⁻⁶⁹.

La actividad de tigeciclina sobre la mayoría de los microorganismos nosocomiales, incluidos los multirresistentes, donde a veces es la única opción terapéutica, hace necesaria para los clínicos, hoy más que nunca, la posibilidad de conocer los perfiles de sensibilidad bacteriana a este antibiótico que emiten los laboratorios de microbiología de los hospitales.

FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA

Tigeciclina es un fármaco de gran liposolubilidad que va a condicionar sus propiedades farmacocinéticas: acceso rápido a los tejidos y al interior de la células desde el plasma, de los que se va eliminando posteriormente de forma lenta^{70,71}.

Por su perfil farmacocinético, se pueden diferenciar dos volúmenes de distribución, uno central (plasmático) que es de 1,15 l/kg y otro periférico (tisular) mayor de 7,2 l/kg, a pesar de su elevada unión proteica (71-89%)^{70,71}. En relación con otros antimicrobianos, el volumen de distribución de tigeciclina sólo es superado por los macrólidos y azoles. Tigeciclina alcanza concentraciones muy altas, en comparación con la plasmática, en la vía biliar, en la bilis y la mucosa del colon⁷². En otras localizaciones como pulmón y hueso son más bajas, pero aún así mayores que las plasmáticas. Sin embargo, en algunas localizaciones como el líquido sinovial y cefalorraquíeo las concentraciones son inferiores a las séricas (tabla 7)⁷². La causa de estas diferencias en las concentraciones viene determinada por la celularidad que hay en cada uno de estos sitios anatómicos. La concentración intracelular de tigeciclina es 20-30 veces superior a la extracelular⁷³. A pesar de esta tendencia del

Tabla 6 Actividad de tigeciclina frente a micobacterias y bacterias atípicas⁹

Microorganismo	CMI ₉₀ (mg/L)
<i>M. abscessus</i>	
Sensible a tetraciclina	0,25
Resistente a tetraciclina	0,25
<i>M. chelonae</i>	
Sensible a tetraciclina	≤0,13
Resistente a tetraciclina	≤0,13
<i>M. grupo fortuitum</i>	
Sensible a tetraciclina	≤0,13
Resistente a tetraciclina	≤0,13
<i>M. avium</i> complex	> 32
<i>M. lentiflatum</i>	> 32
<i>M. marinum</i>	3-16
<i>M. kansasii</i>	32
<i>C. pneumoniae</i>	0,13
<i>M. hominis</i>	0,5
<i>M. pneumoniae</i>	0,25
<i>U. urealyticum</i>	8

fármaco a distribuirse en los tejidos, su concentración plasmática, sobre todo tras dosis múltiples, está por encima de los puntos de corte de sensibilidad establecidos para la mayoría de los cocos grampositivos, pero no en el caso de las enterobacterias, para las que habría que administrar dosis ≥100 mg/día^{6,8,70}. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los puntos de corte de sensibilidad establecidos son sólo una ayuda para el tratamiento pero no una regla matemática. En este sentido, es bien conocida la efectividad de los betalactámicos en el tratamiento de las infecciones respiratorias bajas, aún cuando su concentración en el esputo está muy por debajo 8 mg/l, punto que separa en estos casos la sensibilidad de la resistencia⁷⁴.

La eliminación plasmática de tigeciclina se realiza sólo en un 10% por vía renal. El 50% lo hace de forma activa por el circuito bilis-heces con poca circulación enterohepática^{70,71}. Como consecuencia de la escasa eliminación renal de tigeciclina, sus parámetros farmacocinéticos no varían en la insuficiencia renal grave ni con la hemodiálisis. La hemofiltración tampoco modifica al fármaco por el poco tiempo que permanece en plasma^{70,71,75,76}. Estos hechos hacen que en el paciente con insuficiencia renal y en el crítico se recomiende la dosis normal y puede constituir una ventaja para el tratamiento. Por el contrario, el ajuste de dosis si es necesario en la insuficiencia hepática estadio Child C por la acumulación del fármaco y en concreto se recomienda reducir la dosis de mantenimiento a la mitad (25 mg/12 h), pero no la de carga^{8,74}.

La metabolización hepática de tigeciclina es del 30% y de

Tabla 7 Concentraciones de tigeciclina a las 24 horas de la infusión en suero, tejidos y líquidos corporales⁷²

Sitio de muestra	Suero (mg/L)	Sitio (mg/L o mg/kg)	Relación sitio/suero
Bilis	0,066 ± 0,016	55,8 ± 50,5	822 ± 644
Vesícula biliar	0,066 ± 0,016	2,52 ± 3,19	34 ± 37
Colon	0,078 ± 0,029	0,575 ± 0,485	6,4 ± 4,6
Pulmón	0,088 ± 0,103	0,401 ± 0,222	11,2 ± 4
Hueso	0,057 ± 0,016	0,090 ± 0,005	1,95 ± 0,17
Líquido sinovial	0,061 ± 0,017	0,042 ± 0,011	0,71 ± 0,15
LCR	0,062 ± 0,018	0,025 ± 0,005	0,41 ± 0,07

LCR: líquido ceforraquídeo

tipo no microsomal (glucuronización, N-acetilación y citocromos distintos al CYP450), lo que evita la aparición de interacciones medicamentosas. Hay descrita una con anticoagulantes orales sin relevancia clínica ni modificación del INR^{70,71}. La semivida de eliminación de tigeciclina es alta, en torno a las 37 horas, lo que permitiría administrarla una vez al día, sin embargo se recomienda cada 12 horas para mejorar la tolerancia digestiva del fármaco^{70,71}. Las condiciones farmacocinéticas de tigeciclina no se ven alteradas por razones de edad y sexo^{70,71}.

El parámetro farmacocinético/farmacodinámico (FC/FD) que mejor predice la eficacia clínica y la erradicación microbiológica de tigeciclina es el ABC_{24h} (área bajo la curva)/CMI^{71,75}. A partir de varios estudios con este antibiótico en infecciones complicadas de piel y partes, intraabdominales y neumonía comunitaria se han identificado unos puntos de corte para estafilococos y estreptococos (11,4-17,9), enterobacterias (6,96) y neumonía comunitaria ($\geq 12,8$)⁷⁷⁻⁷⁹. El potencial de estos puntos de corte ha sido analizado posteriormente en una simulación Monte Carlo. Con el punto de corte $\geq 17,9$ para *S. aureus*, la probabilidad media de erradicación microbiológica fue 94% y 66% para una CMI $\leq 0,25$ y $\geq 0,5$ mg/L, respectivamente⁸⁰. En el caso de las enterobacterias para un punto de corte $\geq 6,96$, la probabilidad media de curación clínica fue del 94% con una CMI $\leq 0,25$ mg/L, del 84% con una CMI de 0,5 mg/L y del 67% con una CMI de 8 mg/L⁸¹. Al relacionar estos valores con el ABC_{24h} de tigeciclina en plasma que oscila entre 4,18 y 5,35 mgxh/l, se observa que si la CMI es de 0,5 mg/L el parámetro FC/FD se cumple, pero si la CMI es de 1 mg/L estaría en el límite inferior⁷². Por el contrario, la situación es más favorable en el foco infeccioso tisular, donde la relación ABC/CMI es mucho mayor, ya que el ABC_{0-24h} de tigeciclina en bilis, vesícula biliar, colon y pulmón son 537, 23, 2,6 y 2 veces superiores a la sérica, respectivamente⁷². Del conocimiento de estos hechos y la falta de puntos de corte para el resto de microorganismos, se puede deducir que en infecciones por bacterias multirresistentes con CMI altas, sobre todo localizadas en el torrente circulatorio, sería conveniente el uso de tigeciclina a dosis más altas de las convencionales, en torno a los 150-200 mg/día o recurrir a la terapia combinada con otros antibióticos^{82,83}.

EXPERIENCIA CLÍNICA

Tigeciclina ha sido aprobada por la FDA para el tratamiento de las infecciones complicadas de piel y partes blandas (IPPBc), intraabdominales (IIA) y la neumonía adquirida en la comunidad (NAC). En Europa tiene las mismas indicaciones con la excepción de la NAC. Sendos ensayos clínicos de no inferioridad, multicéntricos, aleatorizados y doble ciego en fase 3 en los que tigeciclina se comparó con vancomicina más aztreonam, imipenem y levofloxacino, respectivamente han permitido estas indicaciones clínicas⁸⁴⁻⁸⁶.

Infección de piel y partes blandas

El ensayo clínico pivotal en IPPBc con 1.100 pacientes se compone de dos estudios multicéntricos, aleatorizados, doble ciego, en fase 3. Las tasas de curación clínica para tigeciclina y vancomicina más aztreonam fueron del 79,7% y 81,9% en la valoración por intención de tratar y del 86,5% y 88,6% en los pacientes clínicamente evaluables⁸⁴. En un estudio en fase 3, multicéntrico, aleatorizado 3:1 y doble ciego, se ha comparado la eficacia de tigeciclina frente a vancomicina en IPPBc causadas por *S. aureus* resistente a meticilina (SARM). La tasas de curación clínica fueron equiparables tanto en la valoración por intención de tratar [78,6% (55/70) vs. 87% (20/23)] como en la población microbiológicamente evaluable [86,4% (51/59) vs. 86,9%(20/23)]⁸⁷. Más adelante, en un ensayo clínico en fase 3b/4, aleatorizado y abierto, tigeciclina se ha comparado a ampicilina-sulbactam o amoxicilina-clavulánico en IPPBc. En los pacientes clínicamente evaluables tratados con tigeciclina curaron 162 de 209 (77,5%) frente a los 152 de 196 (77,6%) con el comparador. La erradicación en los pacientes microbiológicamente evaluables fue del 79,2% para tigeciclina y del 76,8% para el betalactámico⁸⁸. Tigeciclina también se ha comparado con delafloxacino, a dos dosis diferentes, en IPPBc en un ensayo clínico en fase 2, multicéntrico, aleatorizado y doble ciego. El principal microorganismo causal fue *S. aureus* con predominio de los SARM. En los pacientes clínicamente evaluables las tasas de curación fueron las siguientes: 91,2% tigeciclina, 94,3% delafloxacino 300 mg/12 y 92,5% delafloxacino 450 mg/12 h⁸⁹. El último ensayo clínico de tigeciclina en IPPBc es uno en fase 3, doble ciego, de no inferioridad frente a ertapenem ± vancomicina en el pie diabético. La dosis de tigeciclina y ertapenem fueron de 150 mg y 1 g diarios, respectivamente. En el mismo estudio tigeciclina no reunió los criterios establecidos de no inferioridad en relación con el comparador y además sus efectos adversos (náuseas y vómitos) y tasa de discontinuación fueron significativamente más elevados⁹⁰ (tabla 8).

Asimismo, se han publicado varios estudios observacionales de tipo prospectivo con tigeciclina en pacientes críticos y no críticos con tasas de curación que van del 63% al 82%⁹¹⁻⁹⁵. En los primeros las infecciones suelen afectar a los tejidos profundos, con frecuencia son necrosantes y precisan cirugía⁹³⁻⁹⁵.

Tabla 8 Eficacia y seguridad de tigeciclina en IPPBc en ensayos clínicos

Autor	Tipo estudio	N	Tigeciclina (mg)	Comparador	Respuesta clínica p	Efectos adversos ^a p
Ellis-Grosse ⁸⁴	Doble ciego	1116	100 inicial 50/12 h	Vancomicina + aztreonam	NS	< 0,001
Florescu ⁸⁷	Doble ciego	157	100 inicial 50/12 h	Vancomicina o Linezolid	NS	< 0,005 ^b
Matthews ⁸⁸	Abierto	531	100 inicial 50/12 h	Amoxicilina/clavulánico o Ampicilina/sulbactam	NS	< 0,005
O'Riordan ⁸⁹	Doble ciego	150	100 inicial 50/12 h	Delaflaxacino	NS	NS
Lauf ⁹⁰	Doble ciego	1073	150/24 h	Ertapenem ± vancomicina	< 0,005	< 0,003

^a Náusea, vómitos y diarrea^b Sólo frente a vancomicina**Tabla 9** Eficacia y seguridad de tigeciclina en IIA en ensayos clínicos

Autor	Tipo estudio	N	Tigeciclina (mg)	Comparador	Respuesta clínica p	Efectos adversos ^a p
Babinchak ⁸⁵	Doble ciego	1642	100 inicial 50/12 h	Imipenem/cilastina	NS	< 0,01
Chen ⁹⁷	Abierto	199	100 inicial 50/12 h	Imipenem/cilastina	NS	< 0,005
Towfigh ⁹⁸	Abierto	473	100 inicial 50/12 h	Ceftriaxona + metronidazol	NS	0,014 ^b
Qvist ⁹⁹	Abierto	473	100 inicial 50/12 h	Ceftriaxona + metronidazol	NS	NS

^a Náusea, vómitos y diarrea^b Sólo para náuseas

Una revisión sobre estos trabajos realizados en Europa entre los años 2006 y 2011 con inclusión de 254 pacientes, documenta el uso de tigeciclina en la práctica clínica diaria. Los pacientes que recibieron este fármaco superaban los 60 años, la mayoría presentaban alguna comorbilidad, más de la mitad tenían una infección nosocomial y el 34% estaban en unidades de cuidados intensivos. El APACHE II y SOFA medio fueron de 15,0±7,9 y 5,8±3,9, respectivamente. El agente causal más frecuente fue *S. aureus* (52,7%), el 32% de las infecciones eran polimicrobianas y el 30% de los microorganismos tenían algún tipo de resistencia. Más del 70% de los pacientes recibieron tigeciclina en monoterapia y la duración media del tratamiento fue de 12 días. La respuesta clínica global fue del 80% y del

86% cuando se administró tigeciclina en solitario. Estas tasas fueron inferiores en las infecciones más graves: APACHE II ≥ 15 (75%) y SOFA ≥ 7 (58%)⁹⁶.

Infección intraabdominal

El ensayo clínico pivotal en IIA es el resultado de otros dos estudios aleatorizados, doble ciego, en fase 3. El número de casos aleatorizados superó el millar y la curación clínica en los pacientes microbiológicamente evaluables fue del 86% para tigeciclina e imipenem⁸⁵. Tigeciclina también se ha comparado a imipenem en otro ensayo clínico en fase 3, multicéntrico, aleatorizado y abierto, realizado en China (n= 199). La tasa de curación en pacientes microbiológicamente evaluables fue

Tabla 10 Eficacia y seguridad de tigeciclina en neumonía en ensayos clínicos

Autor	Tipo estudio	N	Tigeciclina (mg)	Comparador	Respuesta clínica p	Efectos adversos ^a p
Tanaseanu ⁸⁶	Doble ciego	859	100 inicial 50/12 h	Levofloxacino	NS	< 0,01
Bergallo ¹⁰⁵	Doble ciego	418	100 inicial 50/12 h	Levofloxacino	NS	≤ 0,05
Dartois ¹⁰⁴	Doble ciego	574	100 inicial 50/12 h	Levofloxacino	NS	-
Ramírez ¹⁰⁶	Doble ciego	425	100 inicial 50/12 h	Levofloxacino	NS	-
Freire ¹⁰⁷	Doble ciego	954	100 inicial 50/12 h	Imipenem/cilastatina	< 0,05 ^b	< 0,05
Ramírez ¹⁰⁸	Doble ciego	108	150 inicial 75/12 h o 200 inicial 100/12 h	Imipenem/cilastatina	NS	-

^a Náusea, vómitos y diarrea^b Sólo en NVM

de 86,5% para tigeciclina y 97,6% para imipenem, y de 81,7% y 90,9%, respectivamente, en la valoración por intención de tratar⁹⁷. Dos ensayos clínicos de características similares al anterior han comparado tigeciclina con ceftriaxona más metronidazol en IIA sin hallar diferencias en la eficacia^{98,99}. En el primero, con 473 pacientes, la curación clínica fue del 70,4% vs. 74,3% y la erradicación microbiológica del 68,1% vs. 71,5%⁹⁸. En el segundo, los porcentajes de curación clínica fueron de 81,8% (162/198) vs. 79,4% (150/189) para tigeciclina y ceftriaxona más metronidazol, respectivamente, y los de erradicación del 82,4% (98/119) para tigeciclina y del 79,6% (86/108) para el comparador⁹⁹ (tabla 9).

Con respecto a los estudios observacionales en IIA, la respuesta a tigeciclina en pacientes críticos y no críticos va del 54% al 88%^{91-95,100,101}. En el de Maseda et al, hecho en nuestro país en pacientes críticos, tigeciclina en combinación (piperacilina-tazobactam 43,5% y fluconazol 52,2%) fue considerado un tratamiento empírico adecuado en el 95% de los casos con una tasa de respuesta favorable del 78%¹⁰¹. Una revisión sobre estos trabajos realizados en Europa mostró que los 785 pacientes con IIA que recibieron tigeciclina se caracterizaban por tener una edad media de 63 años, comorbilidad (88%), infección de origen nosocomial (65%), estancia en unidades de cuidados intensivos (56%) y peritonitis secundaria (65%). La media del APACHE II fue del 16,9±7,6 y del SOFA de 7,0±4,2. Los microorganismos más aislados fueron *E. coli* (41%) y *E. faecium* (40%). El 49% de las infecciones fueron polimicrobianas con 17% de patógenos resistentes. El 54% de los pacientes recibieron tigeciclina en monoterapia y la duración media del tratamiento fue de 10,6 días. La respuesta clínica global alcanzó el 77%, más

alta en los tratamientos en monoterapia (80%) y sólo del 54% cuando el SOFA era ≥ 7¹⁰².

La revisión de los estudios observacionales europeos, tanto de IIA como de IPPBc, ha puesto de manifiesto que tigeciclina sólo fue la primera opción de tratamiento en el 36% de los casos y como monoterapia en el 50%. Las principales razones para su uso fueron el fracaso de otros tratamientos (46%), hacer una cobertura de amplio espectro (41%) y sospecha de patógenos resistentes (39%)¹⁰³.

Neumonía

El ensayo pivotal de la NAC que compara tigeciclina con levofloxacino es suma de otros dos estudios y está formado por más de 800 pacientes, 47% con grados III a V de la escala de Fine. La respuesta clínica de tigeciclina y levofloxacino fue similar en los pacientes clínicamente evaluables [89% (253/282) vs. 86% (252/292)] y en la valoración por intención de tratar [81% (319/394) vs. 79% (321/403)]⁸⁶. La mayor diferencia entre ambos antibióticos (22,9), favorable a tigeciclina, se produjo en el grupo de pacientes diabéticos¹⁰⁴. Tampoco hubo diferencias significativas en la estancia hospitalaria, duración del tratamiento y en la tasa de rehospitalización⁸⁶. Cuando el ABC_{24h}/CMI de tigeciclina era ≥ 12,8 la desaparición de la fiebre se produce significativamente antes⁷⁹. Otro ensayo clínico doble ciego en fase 3 con 418 pacientes, también compara tigeciclina frente a levofloxacino en la NAC. Las tasa de curación fueron comparables entre los dos grupos de tratamiento tanto en pacientes clínicamente evaluables (90,6% vs. 87,2%) como en la modificación por intención de tratar (78% vs. 77,8%)¹⁰⁵. En

Tabla 11 Eficacia de tigeciclina en terapia combinada

Autor	Infección	N	Monoterapia	Terapia combinada	Respuesta clínica	Mortalidad p
Tumbarello ¹²⁰	Bacteriemia por KPC	125	Tigeciclina Colistina Gentamicina	Biterapia ^a Triterapia ^b	-	0,02
Zarkotou ¹²¹	Bacteriemia por KPC	53	Tigeciclina Colistina Gentamicina Carbapenem	Tigeciclina + ^c	-	0,001
Qureshi ¹²²	Bacteriemia por KPC	41	Tigeciclina Colistina Gentamicina Carbapenem Piper/tazo Amox/clav	Tigeciclina + colistina carbapenem aminoglucósido	-	0,01
Di Carlo ¹²⁴	IIA	30	Tigeciclina 100 mg inicial 50 mg / 12 h + Colistina	Tigeciclina 200 mg inicial 100 mg / 12 h + Colistina	-	0,005
Bucaneve ¹³⁹	Neutropenia febril	390	Piper/tazo	Piper/tazo + tigeciclina	< 0,001	NS

KPC: *K. pneumoniae* productora de carbapenemasas

Piper/tazo: piperacilina/tazobactam

Amox-clav: amoxicilina/clavulánico

^a Tigeciclina + colistina, gentamicina o meropenem

^b Tigeciclina + colistina + meropenem o tigeciclina + gentamicina + meropenem

^c Colistina, gentamicina, carbapenem o amikacina; colistina + gentamicina o colistina + carbapenem

un ensayo clínico en fase 3, prospectivo, aleatorizado y doble ciego en NAC tratadas con tigeciclina o levofloxacino, se ha estudiado el tiempo necesario para poder hacer terapia secuencial con levofloxacino oral. En los pacientes clínicamente evaluables la proporción de este cambio fue de 89,9% (124/138) para tigeciclina y 87,8% (137/156) para levofloxacino, con un tiempo medio necesario de 5 días. Los porcentajes de curación fueron comparables, 96,8% para tigeciclina y 95,6% para levofloxacino¹⁰⁶ (tabla 10).

La eficacia y seguridad de tigeciclina también ha sido explorada en la neumonía hospitalaria (NH) en un ensayo clínico en fase 3, multicéntrico, aleatorizado y doble ciego de no inferioridad. Se incluyeron 945 pacientes, de los que 235 tenían una neumonía asociada a ventilación mecánica (NVM). En el mismo, la asociación de tigeciclina y ceftazidina fue comparada con imipenem más vancomicina. Las tasas de curación globales fueron equiparables, del 67,9% para el grupo de tigeciclina y del 78,2% para el de imipenem en los pacientes clínicamente evaluables y del 62,7% y 67,6% en la valoración por intención de tratar, respectivamente. Sin embargo, en los pacientes con

NVM, la eficacia de tigeciclina (47,9%) fue inferior a la de imipenem (70,1%) con una diferencia que excedía el 15%, criterio estadístico preestablecido de no inferioridad entre los grupos de tratamiento. Además, los pacientes con NVM tratados con tigeciclina tenían una mortalidad superior a la de imipenem. Por otro lado, la media del ABC_{24h}/CMI de tigeciclina en los pacientes ventilados (1,7) fue significativamente inferior al alcanzado en los casos que no necesitaron este procedimiento (4,3)¹⁰⁷. Posteriormente, basado en la conveniencia de aumentar el radio ABC_{24h}/CMI, se ha llevado a cabo un ensayo clínico en fase 2 multicéntrico, aleatorizado y doble ciego en la NH, incluida la NVM, que compara dosis altas de tigeciclina (dosis inicial de 200 mg seguido de 100 mg/12 h y dosis inicial de 150 mg seguido de 75 mg/12 h) frente a 1 g/8 h de imipenem/cilastatina. Las tasas de curación en la población clínicamente evaluable fueron del 85% (17/20), 69,6% (16/23) y 75% (18/24), respectivamente. La media del ABC/CMI en los pacientes curados fue de 24,3±20,4 y en los que hubo fracaso de 22,8±9,5¹⁰⁸ (tabla 10). En los estudios observacionales la respuesta de la NH a tigeciclina ha oscilado entre el 45% y 88%^{92,95,109}.

Infecciones por patógenos multirresistentes

El incremento de microorganismos multirresistentes (MMR), incluidos los del grupo ESKAPE (*E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y *Enterobacter* spp.), que se ha producido en nuestro entorno, ha limitado de forma significativa las posibilidades terapéuticas en la actualidad¹¹⁰⁻¹¹³. En este contexto, los clínicos han fijado la atención en tigeciclina que ha empezado a usarse fuera de indicación en monoterapia o terapia combinada en infecciones graves causadas por estas bacterias, especialmente en los casos de *Klebsiella* spp. productoras de carbapenemasas (KPC) y *Acinetobacter* spp. con resultados satisfactorios.

Cocos grampositivos. Además del ensayo clínico de Florescu et al., en SARM, antes comentado⁸⁷, la eficacia de tigeciclina también ha sido analizada en este microorganismo (incluidas cepas comunitarias productoras de la leucidina de Panton-Valentine) en un trabajo de conjunto sobre 6 estudios clínicos (4 randomizados doble ciego y 2 abiertos). Se han incluido 378 pacientes con IPPBc, 79 correspondían a infecciones del pie diabético (IPD) sin osteomielitis. La dosificación de tigeciclina fue la habitual (100 mg de carga, seguida de 50 mg/12 h) excepto en un estudio con 150 mg/24 h. La duración del tratamiento osciló entre 14 y 28 días. Las tasas de curación clínica y microbiológica de tigeciclina fueron del 75,6% y 69,7%, respectivamente, y en la comparación con vancomicina no hubo diferencias significativas¹¹⁴.

En un estudio observacional prospectivo en pacientes graves con infecciones causadas por SARM (n= 132), la eficacia global de tigeciclina alcanzó el 61% y de forma particular: IPPBc 91% (50), IPD 100% (30), NH 70% (21), IIA 27% (19), bacteriemia 68% (15) y NAC 84% (11). En este mismo trabajo la eficacia global de tigeciclina, generalmente usada combinación, en infecciones por enterobacterias productoras de BLEE (67) fue del 31% y del 50% en el caso particular de IIA (35)¹¹⁵.

Bacilos gramnegativos. En un estudio en fase 3 multicéntrico, no comparativo y abierto se ha analizado la respuesta a tigeciclina de varios bacilos gramnegativos (*A. baumannii* 47%, *E. coli* 25%, *K. pneumoniae* 16,7% y *Enterobacter* spp. 11%) causantes de múltiples infecciones (IPPB 67%, IIA 14% y NH 14%). La tasa de curación clínica fue del 72,2% (26/36) y la erradicación en los pacientes microbiológicamente evaluables del 66,7% (24/36). En el caso de *A. baumannii* estas tasas fueron del 82,4% (14/17) y 64,7% (11/17), respectivamente¹¹⁶.

En un estudio retrospectivo en pacientes críticos con diversos tipos de infecciones (21 NVM/asociada a sistema sanitario, 10 bacteriemias y 14 infecciones quirúrgicas) causadas por bacilos gramnegativos multirresistentes (*A. baumannii* 28 y *K. pneumoniae* 23), la eficacia de tigeciclina en monoterapia (100 mg de dosis de carga y 50 mg/12 h de mantenimiento) y en combinación (generalmente con colistina) fueron similares: 81% y 78%, respectivamente¹¹⁷.

En el tratamiento de las KPC hay varios trabajos con tigeciclina en monoterapia con dosis convencionales y elevadas, y terapia combinada. En una cohorte retrospectiva de casos de bacteriuria por KPC (n= 87) se comparó el aclaramiento mi-

crobiológico de varios antibióticos con el siguiente resultado: aminoglucósido 88% que fue significativamente mayor que el de polimixina B (64%, P= 0,02), tigeciclina (43%, p < 0,001) y el del grupo que no recibió tratamiento (36%, p ≤ 0,001)¹¹⁸. En una serie retrospectiva de 16 infecciones por KPC (neumonía 31%, infección urinaria 31%, peritonitis 20%, bacteriemia asociada a catéter 12% y meningitis 6%) en pacientes críticos, los que recibían una dosis de mantenimiento de tigeciclina de 200 mg tenían una mortalidad a los 30 días del 20%, mientras que ascendía al 33% cuando sólo se administraban 100 mg (p= 0,55)¹¹⁹. La terapia combinada parece ser más efectiva que la monoterapia según muestran los resultados de algunos trabajos publicados. El estudio retrospectivo de una cohorte de 125 pacientes con bacteriemias por KPC de tres hospitales italianos, ha mostrado que la mortalidad a los 30 días es significativamente menor con la terapia combinada (tigeciclina + colistina o gentamicina ± meropenem) que con la monoterapia (tigeciclina o colistina) (34,1% vs. 54,3%, p= 0,02)¹²⁰. Otros dos estudios de las mismas características, uno griego y otro norteamericano, con menor número de pacientes, han llegado a las mismas conclusiones. En el primero el tratamiento combinado más frecuente fue tigeciclina con colistina, y en el segundo colistina o tigeciclina con un carbapenem^{121,122}. Además de en la bacteriemia, la terapia combinada también se ha investigado en infecciones de otra localización por KPC. En una serie retrospectiva de 26 infecciones por KPC (NVM 16, bacteriemia 7, infección urinaria 2 y peritonitis 1) en pacientes críticos politraumáticos sin comorbilidad, la combinación de tigeciclina (100 mg/12 h) con gentamicina o colistina, y la adición a veces de fosfomicina como tercer antibiótico, fue efectiva en el 96% (24/26) de los casos, con una mortalidad cruda a los 30 días del 14%¹²³. En un trabajo prospectivo de 30 casos de infecciones postquirúrgicas (15 abscesos intraabdominales, 8 de fuga anastomótica, 4 del sitio quirúrgico y 3 peritonitis) en pacientes críticos se valoró la combinación de colistina con tigeciclina a dosis estándar frente a altas dosis (dosis inicial de 200 mg seguido de 100 mg/12 h). Los 12 casos más graves recibieron la segunda pauta y en comparación con el resto tuvieron una significativa mejor respuesta clínica (p= 0,0035) y menor mortalidad (p=0,005)¹²⁴ (tabla 11).

La experiencia de tigeciclina en *A. baumannii* ha ido aumentando en los últimos años por las múltiples resistencias que este microorganismo expresa^{125,126}. En dos series de NVM por *A. baumannii* las tasas de curación oscilaron entre 69% y 80%^{127,128}. Más recientemente en otra serie retrospectiva de 55 NVM por *A. baumannii* resistentes a carbapenems, la respuesta clínica a otras alternativas fue la siguiente: ampicilina-sulbactam 60%, colistina 66%, aminoglucósido 80% y tigeciclina 90%, aunque en este último caso apareció resistencia intermedia en 4 de 6 casos¹²⁹. Procedente de Taiwan, se ha publicado una serie retrospectiva de tigeciclina a dosis convencionales en pacientes críticos con neumonía por *A. baumannii*, donde la resolución clínica ha sido significativamente menor en las infecciones monomicrobianas que polimicrobianas (14/31, 45,2% vs. 56/85, 65,9%; p= 0,044)¹³⁰.

En una serie turca de NVM, con bacteriemias en ocasio-

Tabla 12 Eficacia y mortalidad de tigeciclina frente a comparadores en meta-análisis.					
Autor	Nº estudios	Nº pacientes	Infecciones	Eficacia	Mortalidad
Iarikov ¹⁴¹	8	5599	Aprobadas y no aprobadas	Menor	Mayor
Cai ¹⁴⁴	8	4561	Aprobadas	Similar	Similar
Yahav ¹⁴⁵	15	7654	Aprobadas y no aprobadas	Menor	Mayor
Tasina ¹⁴⁶	14	7409	Aprobadas y no aprobadas	Similar ^a	Similar
Prasad ¹⁴⁷	13	7434	Aprobadas y no aprobadas	Menor	Mayor
McGovern ¹⁴⁸	17	3788	Aprobadas y no aprobadas	-	Mayor
Vardakas ¹⁴⁹	11	5268	Aprobadas	Similar ^b	Similar

^aMenor en modificación por intención de tratar

^bMenor en las indicaciones no aprobadas

Tabla 13 Mortalidad de tigeciclina por tipo de infección ¹⁵⁰					
Tipo de infección	Tigeciclina		Comparador		% Riesgo de diferencia (IC 95%)
	n/N	%	n/N	%	
IPPBc	12/834	1,4	6/813	0,7	0,7 (-0,3 a 1,7)
IIA	42/1382	3,0	31/1393	2,2	0,8 (-0,4 a 2,0)
NAC	12/424	2,8	11/422	2,6	0,2 (-2,0 a 2,4)
NAH	66/467	14,1	57/467	12,2	1,9 (-2,0 a 6,3)
No NVM	41/336	12,2	42/345	12,2	0,0 (-4,9 a 4,9)
NVM	25/131	19,1	15/122	12,3	6,8 (-2,1 a 15,7)
MMR	11/128	8,6	2/43	4,7	3,9 (-4,0 a 11,9)
IPD	7/553	1,3	3/508	0,6	0,7 (-0,5 a 1,8)
Global	150/3788	4,0	110/3646	3,0	0,6 (0,1 a 1,2)

IPPBc: infección de piel y partes blandas complicadas

IIA: infección intraabdominal

NAC: neumonía adquirida en la comunidad

NAH: neumonía adquirida en el hospital

No NVM: No neumonía asociada a ventilación mecánica

NVM: neumonía asociada a ventilación mecánica

MMR: microorganismos multirresistentes

IPD: infección del pie diabético

nes, por *A. baumannii*, la respuesta clínica de tigeciclina fue del 76% (23/30) y la microbiológica del 50%. En 13 casos hubo superinfecciones, sobre todo por *P. aeruginosa*¹³¹. En otra serie retrospectiva en el Reino Unido formada por 34 infecciones (bacteriemia 9, infección respiratoria 9, osteoarticular y de piel y partes blandas 10, intraabdominales 5 e intracraneal 1), la respuesta clínica de tigeciclina fue del 68%, aunque tres

tuvieron nuevos episodios de bacteriemia por bacilos gramnegativos mientras estaban en tratamiento¹³². Peores resultados clínicos (28%) y microbiológicos (44%) fueron vistos en otra serie retrospectiva con 29 pacientes críticos, donde la neumonía fue la infección más frecuente (83%)¹³³. En otro estudio retrospectivo con 27 pacientes con infecciones por *A. baumannii*, 17 fueron tratados con tigeciclina en monoterapia, llegando a la curación microbiológica y clínica en el 72% y 59%, respectivamente¹³⁴.

Los datos de estudios comparativos de tigeciclina en *Acinetobacter* spp. son más bien escasos. En un trabajo retrospectivo se ha comparado tigeciclina frente colistina en infecciones causadas mayoritariamente por *A. baumannii* y en menor medida por enterobacterias resistentes a carbapenems (neumonía 143, IPPBc 76, urinaria 24 y bacteriemia 23). El fracaso microbiológico fue equivalente entre los grupos de tratamiento, pero la mortalidad en el hospital y a los tres meses ha sido significativamente más baja con tigeciclina que con colistina (30%) o la asociación de colistina más tigeciclina (P= 0,014 y P= 0,005, respectivamente), sin embargo, los pacientes que recibieron colistina tenían significativamente mayor gravedad (p= 0,02) y retraso en el inicio del tratamiento antibiótico (p≤ 0,001)¹³⁵.

Otro estudio retrospectivo en infecciones relacionadas con el sistema sanitario (n= 386) producidas por *A. baumannii* ha comparado la eficacia de tigeciclina en monoterapia (n= 108) o en combinación (ceftazidima, ceftriaxona, piperacilina-tazobactam o un carbapenem) (n= 158) con imipenem más sulbactam (n= 120), sin observar diferencias en la mortalidad a los 30 días. Pero la respuesta clínica fue significativamente mejor (p ≤ 0,05) con tigeciclina que con el grupo comparador. Además, el tratamiento con tigeciclina fue uno de factores predictores más significativos de respuesta clínica¹³⁶.

La neumonía del paciente crítico por *A. baumannii* también ha sido últimamente escenario para comparar tigeciclina frente a colistina en dosis estándar. En un estudio retrospectivo con 294 casos la mortalidad de tigeciclina (60,7%) fue mayor que la de colistina (44%), pero esta diferencia sólo alcanzó la significación cuando la CMI₉₀ para tigeciclina era ≥ 2 mg/L (10/12 vs. 37/84, $P = 0,01$)¹³⁷. El estudio prospectivo de una cohorte de sepsis (50% neumonías y 68% asociadas a ventilación mecánica) por *A. baumannii* procedente de 28 hospitales españoles que recibió tratamiento activo durante más de 48 horas, de acuerdo a los patrones de sensibilidad, ha servido para comparar en nuestro medio la monoterapia ($n = 68$, 67,3%) frente a la terapia combinada ($N = 33$, 32,7%). Colistina (67%) y carbapenems (14%) fueron los antibióticos más usados en monoterapia. Las combinaciones administradas con más frecuencia fueron colistina más tigeciclina (27%) y carbapenem más tigeciclina (12%). La mortalidad cruda a los 30 días fue similar: monoterapia 23,5% y terapia combinada 24%. En el estudio multivariante tampoco hubo diferencias en ambas modalidades de tratamiento¹³⁸.

En último lugar, en cuanto a combinaciones, cabe destacar un ensayo clínico en pacientes hematológicos con neutropenia febril que compara la asociación de piperacilina-tazobactam y tigeciclina (100 mg de carga, seguido de 50 mg/12 h) frente a piperacilina-tazobactam en monoterapia. En la valoración por intención de tratar la respuesta fue favorable en el 67,9% (127/187) para la combinación y 44,3% (90/203) para la monoterapia ($p \leq 0,001$). No hubo diferencias en la mortalidad ni en los efectos adversos¹³⁹ (tabla 11).

Meta-análisis

La experiencia clínica (eficacia y mortalidad) existente con tigeciclina a lo largo de estos años ha sido analizada en varios meta-análisis (tabla 12)¹⁴⁰⁻¹⁴⁹. La FDA en los años 2010 y 2013 y la EMEA en el 2011 emitieron una advertencia sobre el mayor riesgo de mortalidad de tigeciclina observado en un análisis de conjunto de varios ensayos clínicos en IPPBc, infecciones del pie diabético, IIA, NH y NVM, desaconsejando su uso en infecciones graves¹⁴⁰⁻¹⁴³. En otros tres meta-análisis también se ha visto que la mortalidad global de tigeciclina ha sido superior a la de sus comparadores, aunque no siempre con significación estadística¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. Las diferencias encontradas entre ellos pueden atribuirse a la metodología usada, el número de ensayos incluidos y la disponibilidad de datos. Más recientemente, un cuarto meta-análisis en el que además de los estudios se tuvieron en cuenta los datos de los pacientes, ha puesto de manifiesto que la mortalidad parece relacionarse con el empeoramiento o complicaciones de la infección y las enfermedades de base de los pacientes, y no con tigeciclina. No obstante, los pacientes con bacteriemia o con NVM bacteriémicos tenían mayor riesgo de muerte en el grupo de tigeciclina¹⁴⁸. Por último, un trabajo ha analizado por separado las infecciones donde tigeciclina está o no aprobada. En las primeras no se han observado diferencias significativas frente a los comparadores en la eficacia clínica ni en la mortalidad, pero fuera de indicación tigeciclina fue significativamente menos eficaz¹⁴⁹. Esta mayor mortalidad de tigecicli-

na sobre sus comparadores ya había sido detectada a lo largo de los ensayos clínicos. En las indicaciones aprobadas oscila entre el 0,2% en NAC y el 0,8% en la IIA, pero se eleva a casi el 7% en la NVM (tabla 13)¹⁵⁰.

Tigeciclina en dosis altas

La administración de dosis más altas de tigeciclina parece ser una práctica cada vez más común cuando se administra fuera de indicación para el tratamiento de infecciones nosociales por MMR^{108,119,123,124,151-155}. En un estudio retrospectivo en pacientes críticos con infecciones graves por MMR, 54 casos recibieron tigeciclina a dosis estándar (50 mg/12 h) y 46 a dosis elevadas (100 mg/12 h). La tolerancia fue similar y en ningún paciente hubo que retirar el fármaco o reducir la dosis. En los pacientes con NVM la dosis elevada fue un factor predictor independiente de curación clínica ($p = 0,009$)¹⁵⁴. En un estudio de revisión de 8 trabajos y 263 pacientes (58% críticos) se han comparado dos regímenes de de tigeciclina a dosis altas: 1) 200 mg de carga seguido de 100 mg/12 h y 2) 150 mg de carga seguido de 75 mg/12 h. La respuesta clínica fue del 80% (17/20) y 69,6% (16/23), respectivamente ($P = 0,4$). La mortalidad también fue más baja con las dosis más elevadas (3/20; 8,6% vs 7/23; 19,6%), y al contrario sucede con los efectos adversos (diarrea, náuseas y vómitos), pero sin alcanzar significación¹⁵⁶.

SEGURIDAD

En los diferentes ensayos clínicos (tablas 8, 9 y 10) y estudios observacionales publicados los efectos adversos (EA) observados con tigeciclina son leves y reversibles. Los más frecuentes son de tipo digestivo (náuseas, vómitos y diarrea) y generalmente han sido superiores a los observados en los antibióticos con los que se ha comparado, llegando en algunos casos a alcanzar significación estadística^{84,85,87-90,97-99,104,107,157}. Lo mismo ha ocurrido en los meta-análisis^{145,146,157}, llegando en algún caso a alcanzar la significación¹⁴⁵, y cuando tigeciclina se ha usado dosis más altas¹⁵⁷. La incidencia de las náuseas está en torno al 20% y algo menor para los vómitos (13%), pero la interrupción del tratamiento por estos motivos es inferior al 5%. Con mucha menor frecuencia ($\leq 5\%$) se han comunicado otros EA como exantema, incluido el síndrome de Stevens Johnson, y lesiones en órganos (hígado, páncreas, riñón, etc)¹¹⁴. Una publicación reciente ha informado de un descenso del fibrinógeno en suero y un aumento del INR (*international normalised ratio*) y del tiempo de tromboplastina parcial activado en pacientes críticos que recibían dosis altas de tigeciclina. Este efecto reversible se ha relacionado con la eliminación de la flora intestinal y el consiguiente déficit de vitamina K, aunque no se pueden descartar otros mecanismos como un efecto directo del fármaco en la cascada de la coagulación¹⁵⁸.

CONCLUSIONES

El tiempo y la experiencia han confirmado la eficacia y se-

guridad de tigeciclina en las indicaciones aprobadas (IPPBc, IIA y NAC). Pero el panorama actual de resistencias bacterianas que condiciona el tratamiento antibiótico, agravado por la falta de nuevos agentes, viene demandando, cada vez más, el empleo de tigeciclina en indicaciones fuera de aprobación. En estos últimos supuestos, varios meta-análisis y la propia compañía han señalado la mayor mortalidad del tratamiento con tigeciclina administrada a la dosis aconsejada en los ensayos clínicos frente a los tratamientos considerados de elección (fundamentalmente carbapenems). Aún aceptando estos hechos, discutibles en varios aspectos (ensayos clínicos no diseñados para medir la mortalidad, mezcolanza en los subgrupos de estudio, ausencia de valoración de datos de pacientes, etc.), la realidad es que en ocasiones tigeciclina es la única alternativa que le queda al clínico para tratar con garantía de éxito infecciones nosocomiales por MMR, sobre todo por bacilos gramnegativos. Por tanto, a día de hoy la discusión no se centra en cuándo utilizar tigeciclina, sino en cómo optimizar su rendimiento, buscando la combinación más adecuada con otros fármacos y/o incrementando la dosis. Desde el punto de vista microbiológico la mayoría de las enterobacterias son sensibles a tigeciclina, con independencia de que produzcan BLEE, ampC o carbapenemasas, e igual sucede con *Acinetobacter* spp., aunque su punto de corte no está bien establecido. Con respecto a la farmacocinética, tigeciclina penetra bien en los tejidos, pero su concentración sérica a dosis estándar puede no superar la CMI de los bacilos gramnegativos. Estas dudas pueden explicar los resultados contradictorios obtenidos en la NVM por *Acinetobacter* spp. y la bacteriemia por bacilos gramnegativos. El conocimiento del parámetro que predice la eficacia de tigeciclina (ABC_{24h}/CMI) puede ayudar a mejorar su efectividad, como ha quedado patente con el aumento de la dosis en la NVM sin estar condicionado por el deterioro de función renal y hepática leve-moderada. La combinación es aconsejable por dos motivos: 1) dar cobertura a microorganismos fuera del espectro de tigeciclina, como *P. aeruginosa* en la NVM y 2) mejorar la actividad en MMR con CMI al borde del punto de corte. Un buen ejemplo de la asociación es la significativa mejora de eficacia en el paciente neutropénico febril cuando se ha combinado con piperacilina-tazobactam. Por último, otros aspectos interesantes del empleo de tigeciclina son la diversificación del tratamiento y la reducción de la presión selectiva de los carbapenems de lo que caben esperarse beneficios a medio-largo plazo y su utilidad en pacientes alérgicos a betalactámicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Bauer G, Berens C, Projan SJ, Hillen W. Comparison of tetracycline and tigecycline binding to ribosomes mapped by dimethylsulphate and drug-directed Fe²⁺ cleavage of 16S rRNA. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53:592-9.
- Olson MW, Ruzin A, Feyfant E, Rush TS, O'Connell J, Bradford PA. Functional, Biophysical, and Structural Bases for Antibacterial Activity of Tigecycline. *Antimicrobial Agents Chemother* 2006; 50:2156-2166.
- Someya Y, Yamaguchi A, Sawai T. A novel glycolcycline, 9-(N,N-dimethylglycylamido)-6-demethyl-6-deoxytetracycline, is neither transported nor recognized by the transposon Tn10-encoded metal-tetracycline/H⁺ antiporter. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39:247-9.
- Keeney D, Ruzin A, McAleese F, Murphy E, and Bradford PA. MarA-mediated overexpression of the AcrAB efflux pump results in decreased susceptibility to tigecycline in *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:46-53.
- Sorlózano A, Gutiérrez J, Salmerón A, Luna JD, Martínez-Checa F, Román J et al. Activity of tigecycline against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Granada, Spain. *Int J Antimicrob Agents*. 2006; 28:532-6.
- Pillar CM, Draghi DC, Dowzicky MJ, and Sahm DF. In Vitro Activity of Tigecycline against Gram-Positive and Gram-Negative Pathogens as Evaluated by Broth Microdilution and Etest. *J Clin Microbiol* 2008; 46:2862-7.
- Papaparaskevas J, Tzouveleki LS, Tsakris A, Pittaras TE, Legakis NJ; Hellenic Tigecycline Study Group. In vitro activity of tigecycline against 2423 clinical isolates and comparison of the available interpretation breakpoints. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010; 66:187-94.
- EUCAST Technical Note on tigecycline. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 1147-1149.
- Noskin GA. Tigecycline: a new glycolcycline for treatment of serious infections. *Clin Infect Dis*. 2005; 41 Suppl 5:S303-14.
- Dean CR, Visalli MA, Projan SJ, Sum PE, Bradford PA. Efflux-mediated resistance to tigecycline (GAR-936) in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:972-8.
- Insa R, Cercenado E, Goyanes MJ, Morente A, Bouza E. In vitro activity of tigecycline against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:583-5.
- Farrell DJ, Sader HS, Jones RN. Antimicrobial Susceptibilities of a Worldwide Collection of *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates Tested against Tigecycline and Agents Commonly Used for *S. maltophilia* Infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:2735-7.
- Cercenado E, Marín M, Sánchez-Martínez M, Cuevas, Martínez-Alarcón J and Bouza E. In Vitro Activities of Tigecycline and Eight Other Antimicrobials against Different *Nocardia* Species Identified by Molecular Methods. *Antimicrob. Agents Chemother* 2007; 51:1102-1104.
- Salas C, Calvo J and Martínez-Martínez L. Activity of Tigecycline against Coryneform Bacteria of Clinical Interest and *Listeria monocytogenes*. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:1503-1505.
- Morosini M, García-Castillo M, Coque TM, Valverde A, Novais A, Loza E et al. Antibiotic Coresistance in Extended-Spectrum-β-Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* and In Vitro Activity of Tigecycline *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:2695-2699.
- Conejo MC, Mata C, Navarro F, Pascual A; GEMARA collaborative group. Detection and reporting beta-lactam resistance phenotypes in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a multicenter profi-

- ciency study in Spain. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2008; 62:317-25
17. Castanheira M, Sader HS, Deshpande LM, Fritsche TR and Jones RN. Antimicrobial Activities of Tigecycline and Other Broad-Spectrum Antimicrobials Tested against Serine Carbapenemase- and Metallo- β -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52:570-573.
 18. Rodloff AC, Leclercq R, Debbia EA, Cantón R, Oppenheim BA, Dowzicky MJ. Comparative analysis of antimicrobial susceptibility among organisms from France, Germany, Italy, Spain and the UK as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14:307-14.
 19. Mendes RE, Farrella DJ, Sadera HS, Ronald N. Jones RN. Comprehensive assessment of tigecycline activity tested against a worldwide collection of *Acinetobacter* spp. (2005–2009). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 68:307-11.
 20. Fernández-Cuenca F, Tomás Carmona M, Caballero Moyano F, Bou G, Martínez Martínez L, Vila J et al. Actividad de 18 agentes antimicrobianos frente a aislados clínicos de *Acinetobacter baumannii*: segundo estudio nacional multicéntrico (proyecto GEIH-REIPI-Ab 2010). *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013; 31:4–9.
 21. Thamlikitkul V, Tiengrim S, Tribuddharat C. Comment on: High tigecycline resistance in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 177–8.
 22. Curcio D, Fernandez F. *Acinetobacter* spp. susceptibility to tigecycline: a worldwide perspective. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60:449–50.
 23. Tenorio-Abreu A, Eiros Bouza JM, Rodríguez- Molins E, Andaluz Ojeda D, Bobillo de Lamo F, Domínguez-Gil González M et al. Variabilidad en la sensibilidad de tigeciclina frente a *Acinetobacter baumannii* en diferentes medios de cultivo. *Rev Esp Quimioter* 2010; 23:76-80.
 24. Tejero R, Causse M, Moreno MA, Solis F, Rodríguez-López, Casal M. Evaluación de la variabilidad en la sensibilidad de *Acinetobacter baumannii* a tigeciclina en un mismo medio de cultivo con dos métodos de difusión cuantitativos comerciales diferentes. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25:189-93
 25. Bolmström A, Karlsson A, Engelhardt A, Ho P, Petersen PJ, Bradford PA et al. Validation and reproductibility assessment of tigecycline MIC determinations by Etest. *J Clin Microbiol*. 2007; 45:2474-9.
 26. Casal M, Rodríguez F, Johnson B, Garduno E, Tubau F, de Lejarazu RO et al. influence of testing methodology on the tigecycline activity profile against presumably tigecycline-non-susceptible *Acinetobacter* spp. *J Antimicrob Chemother*. 2009; 64:69-72.
 27. Marchaim D, Pogue JM, Tzuman O, Hayakawa K, Lephart PR, Salimnia H et al. Major variation in MICs of tigecycline in Gram-negative bacilli as a function of testing method. *J Clin Microbiol* 2014; 52:1617-21.
 28. Cohen Stuart J, Mouton JW, Diederens BM, Al Naiemi N, Thijsen S, Vlaminckx BJ et al. Evaluation of Etest to determine tigecycline MICs for *Enterobacter* species. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:2746-7.
 29. Torrico M González N, Giménez MJ, Alou L, Sevillano D, Navarro D et al. Influence of media and testing methodology on susceptibility to tigecycline of *Enterobacteriaceae* with reported high tigecycline MIC. *J Clin Microbiol*. 2010; 48:2243-6.
 30. Bradford PA, Petersen PJ, Young M, Jones CH, Tischler M and O'Connell J. Tigecycline MIC Testing by Broth Dilution Requires Use of Fresh Medium or Addition of the Biocatalytic Oxygen-Reducing Reagent Oxyrase To Standardize the Test Method. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 3903-3909.
 31. Fernández-Mazarrasa C Mazarrasa O, Calvo J, del Arco A, Martínez-Martínez L. High concentrations of manganese in Mueller-Hinton agar increase MICs of tigecycline determined by Etest. *J Clin Microbiol*. 2009; 47:827-9.
 32. Veenemans J, Mouton JW, Kluytmans JA, Donnelly R, Verhulst C, van Keulen PH. Effect of manganese in test media on in vitro susceptibility of *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii* to tigecycline. *J Clin Microbiol* 2012; 50:3077-9.
 33. Tubau F, Liñares J, Rodríguez MD, Cercenado E, Aldea MJ, González-Romo F et al. Susceptibility to tigecycline of isolates from samples collected in hospitalized patients with secondary peritonitis undergoing surgery. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2010; 66:308-13.
 34. Dowzicky MJ, Chmelarova E. Global in vitro activity of tigecycline and linezolid against Gram-positive organisms collected between 2004 and 2009. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37:562-6.
 35. Namdari H, Tan TY, Dowzicky MJ. Activity of tigecycline and comparators against skin and skin structure pathogens: global results of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial, 2004–2009. *Intern J Infect Dis* 2012; 16:e60-e66
 36. Sader HS, Farrell DJ, Jones RN. Tigecycline activity tested against multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter* spp. isolated in US medical centers (2005–2009). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 69:223–7.
 37. Andrasevica AT, Dowzicky MJ. In vitro activity of tigecycline and comparators against Gram-negative pathogens isolated from blood in Europe (2004–2009). *Intern J Antimicrob Agents* 2012; 39:115-23.
 38. Mayne D, Dowzicky MJ. In vitro activity of tigecycline and comparators against organisms associated with intra-abdominal infections collected as part of TEST (2004–2009). *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 74:151-7.
 39. Hawser SP, Lob S, Hoban D, Bouchillon S, Badal R. Susceptibility of global intraabdominal *Enterobacteriaceae* isolates to tigecycline (TEST 2007–2010). *J Infect* 2012; 64:620-22.
 40. Denys GA, Callister SM, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among gram-negative isolates collected in the USA between 2005 and 2011 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.). *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2013; 12:24.
 41. Falagas ME, Maraki S, Karageorgopoulos DE, Kastoris AC, Mavromanolakis E, Samonis G. Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant (MDR) and extensively drug-resistant (XDR) *Enterobacteriaceae* isolates to fosfomicin. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35:240–3.
 42. Livermore DM, Warner M, Mushtaq S, Doumith M, Zhang J, Woodford N. What remains against carbapenem-resistant *Enterobac-*

- teriaceae*? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomicin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 37:415–19.
43. Woodford N, Hill RL, Livermore DM. In vitro activity of tigecycline against carbapenem-susceptible and -resistant isolates of *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:582–3.
 44. Naesens R, Ursi JP, Van Schaeren J, Jeurissen A. In vitro activity of tigecycline against multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from a Belgian hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28:381–4.
 45. Sekowska A, Gospodarek E. Susceptibility of *Klebsiella* spp. to tigecycline and other selected antibiotics. *Med Sci Monit* 2010; 16:BR193–6.
 46. Bercot B, Poirel L, Dortet L, Nordmann P. In vitro evaluation of antibiotic synergy for NDM-1-producing *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66:2295–7.
 47. Vázquez MF, Romero ED, García MI, Rodríguez JA, Bellido JL. Comparative in vitro activity of tigecycline against enterobacteria producing two or more extended-spectrum β -lactamases. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 32:541–3.
 48. Sun Y, Cai Y, Liu X, Bai N, Liang B, Wang R. The emergence of clinical resistance to tigecycline. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 41:110–6.
 49. Visalli MA, Murphy E, Projan SJ, Bradford PA. AcrAB multidrug efflux pump associated with reduced levels of susceptibility to tigecycline (GAR-936) in *Proteus mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:665–9.
 50. Ruzin A, Visalli MA, Keeney D, Bradford PA. Influence of transcriptional activator RamA on expression of multidrug efflux pump AcrAB and tigecycline susceptibility in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:1017–22.
 51. Keeney D, Ruzin A, Bradford PA. RamA, a transcriptional regulator, and AcrAB, an RND-type efflux pump, are associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Enterobacter cloacae*. *Microb Drug Resist* 2007; 13:1–6.
 52. Hornsey M, Ellington MJ, Doumith M, Hudson S, Livermore DM, Woodford N. Tigecycline resistance in *Serratia marcescens* associated with up-regulation of the SdeXY-HasF efflux system also active against ciprofloxacin and ceftiofime. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:479–82.
 53. Peleg AY, Adams J, Paterson DL. Tigecycline efflux as a mechanism for nonsusceptibility in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:2065–9.
 54. Sun JR, Chan MC, Chang TY, Wang WY, Chiueh TS. Overexpression of the *adeB* gene in clinical isolates of tigecycline-nonsusceptible *Acinetobacter baumannii* without insertion mutations in *adeRS*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:4934–8.
 55. Ruzin A, Immermann FW, Bradford PA. RT-PCR and statistical analyses of *ade-ABC* expression in clinical isolates of *Acinetobacter calcoaceticus*-*Acinetobacter baumannii* complex. *Microb Drug Resist* 2010; 16:87–9.
 56. Rumbo C, Gato E, López M, Ruiz de Alegría C, Fernández-Cuenca F, Martínez-Martínez L et al. Contribution of Efflux Pumps, Porins, and β -Lactamases to Multidrug Resistance in Clinical Isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:5247–57.
 57. Volkers G, Palm GJ, Weiss MS, Wright GD, Hinrichs W. Structural basis for a new tetracycline resistance mechanism relying on the TetX monooxygenase. *FEBS Lett* 2011; 585:1061–6.
 58. McAleese F, Petersen P, Ruzin A, Dunman PM, Murphy E, Projan SJ, et al. A novel MATE family efflux pump contributes to the reduced susceptibility of laboratory-derived *Staphylococcus aureus* mutants to tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:1865–71.
 59. Stein GE, Babinchak T. Tigecycline: an update. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2013; 75:331–336.
 60. Petersen PJ, Labthavikul P, Hal Jones C, Bradford PA. In vitro antibacterial activities of tigecycline in combination with other antimicrobial agents determined by checkerboard and time-kill kinetic analysis. *J Antimicrob Agents* 2006; 57:573–6.
 61. Vouillamoz J, Moreillon P, Giddey M, Entenza JM. In vitro activities of tigecycline combined with other antimicrobials against multidrug-resistant Gram-positive and Gram-negative pathogens. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:371–374.
 62. Entenza JM, Moreillon P. Tigecycline in combination with other antimicrobials: a review of in vitro, animal and case report studies. *Intern J Antimicrob Agents* 2009; 34: 8.e1–8.e9
 63. Pournaras S, Vrioni G, Neou E, Dendrinos J, Dimitroulia E, Poulou A et al. Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *Enterobacteriaceae* strains by time-kill assay. *Intern J Antimicrob Agents* 2011; 37:244–7.
 64. Silvestri C, Cirioni O, Arzeni D, Ghiselli R, Simonetti O, Orlando F et al. In vitro activity and in vivo efficacy of tigecycline alone and in combination with daptomycin and rifampin against Gram-positive cocci isolated from surgical wound infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012; 31:1759–64.
 65. Betts JW, Phee LM, Hornsey M, Woodford N, Wareham DW. In vitro and in vivo activities of tigecycline-colistin combination therapies against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014; 58:3541–6.
 66. Labthavikul P, Petersen PJ, Bradford PA. In vitro activity of tigecycline against *Staphylococcus epidermidis* growing in an adherent-cell biofilm model. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003; 47:3967–9.
 67. Molina Manso D, del Prado G, Ortiz Pérez A, Manrubia Cobo M, Gómez Barrena E, Cordero Ampuero J et al. In vitro susceptibility to antibiotics of staphylococci in biofilms isolated from orthopaedic infections. *Intern J Antimicrob Agents* 2013; 41:521–3.
 68. Tang HJ, Chen CC, Cheng KC, Wu KY, Lin YC, Zhang CC et al. In vitro efficacies and resistance profiles of rifampin-based combination regimens for biofilm-embedded methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:5717–20.
 69. Aslam S, Trautner BW, Ramanathan V, Darouiche RO. Combination of tigecycline and N-acetylcysteine reduces biofilm-embedded

- bacteria on vascular catheters. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:1556-8.
70. Muralidharan G, Micalizzi M, Speth J, Raible D, Troy S. Pharmacokinetics of tigecycline after single and multiple doses in healthy subjects. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49:220-9.
71. Meagher AK, Ambrose PG, Grasela TH, Ellis-Grosse EJ. The Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profile of Tigecycline. *Clin Infect Dis* 2005; 41 (Suppl. 5):S333-40
72. Rodvold KA, Gotfried MH, Cwik M, Korth-Bradley JM, Dukart G, Ellis-Grosse EJ. Serum, tissue and body fluid concentrations of tigecycline after a single 100 mg dose. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 58:1221-9.
73. Ong CT, Babalola CP, Nightingale CH, Nicolau DP. Penetration, efflux and intracellular activity of tigecycline in human polymorphonuclear neutrophils (PMNs). *J Antimicrob Chemother*. 2005; 56:498-501.
74. Klekner A, Bagyi K, Bognar L, Gaspar A, Andrasi M and Szabo J. Effectiveness of Cephalosporins in the Sputum of Patients with Nosocomial Bronchopneumonia. *J Clin Microbiol* 2006; 44:3418-21
75. Meagher AK, Ambrose PG, Grasela TH, Ellis-Grosse EJ. Pharmacokinetic/pharmacodynamic profile for tigecycline—a new glycylicycline antimicrobial agent. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 2005; 52:165-71
76. Korth-Bradley JM, Troy SM, Matschke K, Muralidharan G, Fruncillo RJ, Speth JL et al. Tigecycline pharmacokinetics in subjects with various degrees of renal function. Effects of age and sex on single-dose pharmacokinetics of tigecycline in healthy subjects. *J Clin Pharmacol*. 2012; 52:1379-87.
77. Meagher AK, Passarell JA, Cirincione BB, Van Wart SA, Liolios K, Babinchak T et al. Exposure-response analyses of tigecycline efficacy in patients with complicated skin and skin-structure infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51:1939-45.
78. Passarell JA, Meagher AK, Liolios K, Cirincione BB, Van Wart SA, Babinchak T et al. Exposure-response analyses of tigecycline efficacy in patients with complicated intra-abdominal infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008; 52:204-10.
79. Rubino CM, Bhavnani SM, Forrest A, Dukart G, Dartois N, Cooper A, et al. Pharmacokinetics-pharmacodynamics of tigecycline in patients with community acquired pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56:130-6.
80. Ambrose PG, Meagher AK, Passarell JA, Van Wart SA, Cirincione BB, Bhavnani SM et al. Application of patient population-derived pharmacokinetic-pharmacodynamic relationships to tigecycline breakpoint determination for staphylococci and streptococci. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009; 63:155-9.
81. Ambrose PG, Meagher AK, Passarell JA, Van Wart SA, Cirincione BB, Rubino CM et al. Use of a clinically derived exposure-response relationship to evaluate potential tigecycline-*Enterobacteriaceae* susceptibility breakpoints. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 63:38-42
82. Giamarellou H, Poulakou G. Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of tigecycline. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2011; 7:1459-70.
83. Sevillano D, Aguilar L, Alou L, Giménez MJ, González N, Torrico M et al. Exposure response analysis of tigecycline in pharmacodynamic simulations using different size inocula of target bacteria. *Intern J Antimicrob Agents* 2010; 36:137-44.
84. Ellis-Grosse EJ, Babinchak T, Dartois N, Rose G, Loh E, Tigecycline 300 and 305 cSSSI Study Groups. The efficacy and safety of tigecycline in the treatment of skin and skin-structure infections: results of 2 double-blind phase 3 comparison studies with vancomycin-aztreonam. *Clin Infect Dis* 2005; 41 suppl 5:S341-53.
85. Babinchak T, Ellis-Grosse E, Dartois N, Rose GM, Loh E, Tigecycline 301 and 306 Study Groups. The efficacy and safety of tigecycline for the treatment of complicated intra-abdominal infections: analysis of pooled clinical trial data. *Clin Infect Dis* 2005; 41:S354-67.
86. Tanaseanu C, Bergallo C, Teglia O, Jasovich A, Oliva ME, Dukart G, et al, 308 and 313 Study Groups. Integrated results of 2 phase 3 studies comparing tigecycline and levofloxacin in community-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 61:329-38.
87. Florescu I, Beuran M, Dimov R, Razbadauskas A, Bochan M, Fichev G et al. Efficacy and safety of tigecycline compared with vancomycin or linezolid for treatment of serious infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* or vancomycin-resistant enterococci: a Phase 3, multicentre, double-blind, randomized study. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62 Suppl 1:i17-28.
88. Matthews P, Alpert M, Rahav G, Rill D, Zito E, Gardiner D, et al. A randomized trial of tigecycline versus ampicillin-sulbactam or amoxicillin-clavulanate for the treatment of complicated skin and skin structure infections. *BMC Infect Dis* 2012; 12:297.
89. O'Riordan W, Mehra P, Manos P, Kingsley J, Lawrence L, Cammarata S. A randomized phase 2 study comparing two doses of delafloxacin with tigecycline in adults with complicated skin and skin-structure infections. *Intern J Infect Dis* 2015; 30: e67-e73.
90. Lauf L, Ozsvár Z, Mitha I, Regöly-Mérei J, Embil JM, Cooper A et al. Phase 3 study comparing tigecycline and ertapenem in patients with diabetic foot infections with and without osteomyelitis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 78:469-80.
91. Avkan-Oguz V, Yapar N, Alp-Cavus S, Onder KD, Aktas E, Gulay Z, Cakir N. Clinical and microbiological efficacy of tigecycline for complicated skin-soft-tissue and intra-abdominal infections in a Turkish university hospital. *Int J Clin Pract* 2013; 67: 492-3.
92. Bassetti M, Nicolini L, Repetto E, Righi E, del Bobo V, Viscoli C. Tigecycline use in serious nosocomial infections: a drug use evaluation. *BMC Infect Dis* 2010; 10:287.
93. Eckmann C, Heizmann WR, Leitner E, von Eiff C, Bodmann KF. Prospective, non-interventional, multi-centre trial of tigecycline in the treatment of severely ill patients with complicated infections: new insights into clinical results and treatment practice. *Chemotherapy* 2011; 57:275-84.
94. Bodmann KF, Heizmann WR, von Eiff C, Petrik C, Löschmann PA, Eckmann C. Therapy of 1,025 severely ill patients with complicated infections in a German multicenter study: safety profile and efficacy of tigecycline in different treatment modalities. *Chemotherapy*

- 2012; 58:282-94.
95. Montravers P, Dupont H, Bedos JP, Bret P; Tigecycline Group. Tigecycline use in critically ill patients: a multicentre prospective observational study in the intensive care setting. *Intensive Care Med* 2014; 40:988-97.
96. Montravers P, Bassetti M, Dupont H, Eckmann C, Heizmann WR, Guirao X et al. Efficacy of tigecycline for the treatment of complicated skin and soft-tissue infections in real-life clinical practice from five European observational studies. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68 Suppl 2: ii15-ii24
97. Chen Z, Wu J, Zhang Y, Wei J, Leng X, Bi J et al. Efficacy and safety of tigecycline monotherapy vs. imipenem/cilastatin in Chinese patients with complicated intra-abdominal infections: a randomized controlled trial. *BMC Infect Dis* 2010; 10: 217.
98. Towfigh S, Pasternak J, Poirier A, Leister H, Babinchak T. A multicentre, open-label, randomized comparative study of tigecycline versus ceftriaxone sodium plus metronidazole for the treatment of hospitalized subjects with complicated intra-abdominal infections. *Clin Microbiol Infect* 2010; 30:1274-81.
99. Qvist N, Warren B, Leister-Tebbe H, Zito ET, Pedersen R, McGovern PC et al. Efficacy of tigecycline versus ceftriaxone plus metronidazole for the treatment of complicated intra-abdominal infections: results from a randomized, controlled trial. *Surg Infect (Larchmt)* 2012; 13:102-9.
100. Swoboda S, Ober M, Hainer C, Lichtenstern C, Seiler C, Wendt C et al. Tigecycline for the treatment of patients with severe sepsis or septic shock: a drug use evaluation in a surgical intensive care unit. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61: 729-33.
101. Maseda E, Denis SE, Riquelme A, Gilsanz F. Use of tigecycline in critically ill patients with serious nosocomial intra-abdominal infections. *Rev Esp Quimioter* 2013; 26:56-63.
102. Eckmann C, Montravers P, Bassetti M, Bodmann KF, Heizmann WR, Sánchez García M et al. Efficacy of tigecycline for the treatment of complicated intraabdominal infections in real-life clinical practice from five European observational studies. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68 Suppl 2: ii25-ii35.
103. Bassetti M, Eckmann C, Bodmann KF, Dupont H, Heizmann WR, Montravers P et al. Prescription behaviours for tigecycline in real-life clinical practice from five European observational studies. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68 Suppl 2: ii5-ii14.
104. Bergallo C, Jasovich A, Teglia O, Oliva ME, Lentnek A, de Wouters L et al. Safety and efficacy of intravenous tigecycline in treatment of community-acquired pneumonia: results from a double-blind randomized phase 3 comparison study with levofloxacin. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009; 63: 52-61.
105. Dartois N, Cooper CA, Castaing N, Gandjini H, Sarkozy D on behalf of the 308 and 313 Study Groups. Tigecycline *Versus* Levofloxacin in Hospitalized Patients With Community-Acquired Pneumonia: An Analysis of Risk Factors. *Open Resp Med J* 2013; 7:13-20.
106. Ramirez JA, Cooper AC, Wiemken T, Gardiner D, Babinchak T For the 308 Study Group. Switch therapy in hospitalized patients with community-acquired pneumonia: Tigecycline vs. Levofloxacin. *BMC Infect Dis* 2012, 12:159.
107. Freire AT, Melnyk V, Kim MJ, Datsenko O, Dzyublike O, Glumcher F et al. Comparison of tigecycline with imipenem/cilastatin for the treatment of hospital-acquired pneumonia. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 68:140-51.
108. Ramirez J, Dartois N, Gandjini H, Yan JL, Korth-Bradley J, McGovern PC. Randomized phase 2 trial to evaluate the clinical efficacy of two high-dosage tigecycline regimens versus imipenem-cilastatin for treatment of hospital-acquired pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:1756-62.
109. Curcio D, Whittle Vargas S, Ugarte Ubiergo S, Varón F, Rojas Suarez J, Paz Chávez C et al. Tigecycline Treatment of Critically Ill Patients: The Latinuser Experience. *Curr Clinical Pharmacol* 2011; 6:18-25.
110. Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J Infect Dis* 2008; 197:1079-81.
111. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE Jr, Gilbert D, Rice LB et al. Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis* 2009; 48:1-12.
112. Oteo J, Saez D, Bautista V, Fernández-Romero S, Hernández-Molina JM, Pérez Vázquez M et al. Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Spain in 2012. *Antimicrob Agents Chemother* 2013, 57:6344.
113. Giménez MJ, García-Rey C, Barberán J, Aguilar L. Experiencia clínica con tigeciclina en el tratamiento de infecciones nosocomiales producidas por aislados con mecanismos de resistencia prevalentes. *Rev Esp Quimioter* 2009; 22:48-56.
114. Puzniak LA, Quintana A, Wible M, Babinchak T, McGovern PC. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection epidemiology and clinical response from tigecycline soft tissue infection trials. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014; 79:261-5.
115. Heizmann WR, Löschmann PA, Eckmann C, von Eiff C, Bodmann KF, Petrik C. Clinical efficacy of tigecycline used as monotherapy or in combination regimens for complicated infections with documented involvement of multiresistant bacteria. *Infection*. 2015; 43:37-43.
116. Vasilev K, Reshedko G, Orasan R, Sanchez M, Teras J, Babinchak T, et al. A Phase 3, openlabel, non-comparative study of tigecycline in the treatment of patients with selected serious infections due to resistant Gram-negative organisms including *Enterobacter* species, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62 (Suppl. 1):i29-40.
117. Poulakou G, Kontopidou FV, Paramythiotou E, Kompoti M, Katsiari M, Mainas E et al. Tigecycline in the treatment of infections from multi-drug resistant gram-negative pathogens. *J Infect* 2009; 58:273e284
118. Satlin MJ, Kubin CJ, Blumenthal JS, Cohen AB, Furuya EY, Wilson SJ et al. Comparative Effectiveness of Aminoglycosides, Polymyxin B, and Tigecycline for Clearance of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* from Urine. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:5893-9.
119. Balandin Moreno B, Fernández Simón I, Pintado García V, Sánchez Romero I, Isidoro Fernández B, Romera Ortega MA et al. Tigecycline therapy for infections due to carbapenemase-producing *Kleb-*

- siella pneumoniae* in critically ill patients. *Scan J Infect Dis* 2014; 46:175–180.
120. Tumbarello M, Viale P, Viscoli C, Trecarichi EM, Tumietto F, Marchese A et al. Predictors of Mortality in Bloodstream Infections Caused by *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing K. pneumoniae: Importance of Combination Therapy. *Clin Infect Dis* 2012; 55:943–50.
 121. Zarkotou O, Pournaras S, Tselioti P, Dragoumanos V, Pitiriga V, Ranelou K et al. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and impact of appropriate antimicrobial treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2011; 17:1798–803
 122. Qureshi ZA, Paterson DL, Potoski BA, Kilayko MC, Sandovsky G, Sor-dillo E et al. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: superiority of combination antimicrobial regimens. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012; 56:2108–13
 123. Sbrana F, Malacarne P, Viaggi B, Costanzo S, Leonetti P, Leonildi A et al. Carbapenem-Sparing Antibiotic Regimens for Infections Caused by *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-Producing K. pneumoniae in Intensive Care Unit. *Clin Infect Dis* 2013; 56:697–700
 124. Di Carlo P, Gulotta G, Casuccio A, Pantuso G, Raineri M, Farulla CA et al. KPC - 3 *Klebsiella pneumoniae* ST258 clone infection in postoperative abdominal surgery patients in an intensive care setting: analysis of a case series of 30 patients. *BMC Anesthesiology* 2013, 13:13.
 125. Garnacho-Montero J, Amaya-Villar R. Multiresistant *Acinetobacter baumannii* infections: epidemiology and management. *Cur Opin Infect Dis* 2010; 23:332–339
 126. Pogue JM, Mann T, Barber KE, Kaye KS. Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, surveillance and management. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013; 11:383–393.
 127. Schafer JJ, Goff DA, Stevenson KB, Mangino JE. Early experience with tigecycline for ventilator-associated pneumonia and bacteremia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Pharmacotherapy* 2007; 27:980–987.
 128. Curcio D, Fernández F, Vergara J, Vázquez W, Luna CM. Late onset ventilator-associated pneumonia due to multidrug-resistant *Acinetobacter* spp.: experience with tigecycline. *J Chemother* 2009; 21:58–62.
 129. Chan JD, Graves JA, Dellit TH. Antimicrobial treatment and clinical outcomes of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *J Intensive Care Med* 2010; 25:343–348.
 130. Ye JR, Lin HS, Kuo AJ, Leu HS, Chiang PC, Huang CT et al. The clinical implication and prognostic predictors of tigecycline treatment for pneumonia involving multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Infect* 2011; 63:351–61.
 131. Guner R, Hasanoglu I, Keske S, Kalem AK, Tasyaran MA. Outcomes in patients infected with carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and treated with tigecycline alone or in combination therapy. *Infection* 2011; 39:515–518.
 132. Gordon NC, Wareham DW. A review of clinical and microbiological outcomes following treatment of infections involving multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* with tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63:775–780.
 133. Gallagher JC, Rouse HM. Tigecycline for the treatment of *Acinetobacter* infections: a case series. *Ann Pharmacother* 2008; 42:1188–94.
 134. Shin JA, Chang YS, Kim HJ, Kim SK, Chang J, Ahn CM, Byun MK. Clinical outcomes of tigecycline in the treatment of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection. *Yonsei Med J*. 2012; 53:974–84
 135. Ku K, Pogue JM, Moshos J, Bheemreddy S, Wang Y, Bhargava A et al. Retrospective evaluation of colistin versus tigecycline for the treatment of *Acinetobacter baumannii* and/or carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections. *Am J Infect Control* 2012; 40:983–7.
 136. Lee YT, Tsao SM, Hsueh PR. Clinical outcomes of tigecycline alone or in combination with other antimicrobial agents for the treatment of patients with healthcare-associated multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32:1211–20.
 137. Chuang YC, Cheng CY, Sheng WH, Sun HY, Wang JT, Chenet YC et al. Effectiveness of tigecycline-based versus colistin-based therapy for treatment of pneumonia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in a critical setting: a matched cohort analysis. *BMC Infect Dis* 2014, 14:102
 138. López-Cortés LE, Cisneros JM, Fernández-Cuenca F, Bou G, Tomás M, Garnacho-Montero J et al. Monotherapy versus combination therapy for sepsis due to multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: analysis of a multicentre prospective cohort. *J Antimicrob Chemother* 2014; 69:3119–26.
 139. Bucaneve G, Micozzi A, Picardi M, Ballanti S, Cascavilla N, Salutati P et al. Results of a Multicenter, Controlled, Randomized Clinical Trial Evaluating the Combination of Piperacillin/Tazobactam and Tigecycline in High-Risk Hematologic Patients With Cancer With Febrile Neutropenia. *J Clin Oncol* 2014; 32:1463–71
 140. FDA (2010) FDA drug safety communication: increased risk of death with Tygacil (tigecycline) compared to other antibiotics used to treat similar infections. <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm369580.htm>. Accessed 12 march 2015.
 141. Iarikov D, Alexander J, Charles J, Tracy L, Nambiar S. Analysis of an increase in all-cause mortality in tigecycline treated patients. 51st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), 17–20 september 2011, Chicago IL, 2011, ASM Press, Washington, DC, Abstract K-1428.
 142. FDA (2013) FDA drug safety communication: FDA warns of increased risk of death with IV antibacterial Tygacil (tigecycline) and approves new boxed warning. <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm369580.htm>. Accessed 12 march 2015.
 143. European Medicines Agency (2015). EPAR Summary for the Public: Tygacil CHMP variation assessment report Type II variation EMEA/H/C/000644/II/0057 P46 052. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/edicines/000644/human_med_001118.jsp&tmurl=menus/medicines/medicines.jsp&mid=WCOb01ac058001d125. Accessed 12 march 2015.

144. Cai Y, Wang R, Liang B, Bai N, Liu Y. Systematic review and meta-analysis of the effectiveness and safety of tigecycline for treatment of infectious disease. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:1162-72.
145. Yahav D, Lador A, Paul M, Leibovici L. Efficacy and safety of tigecycline: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66:1963-71.
146. Tasina E, Haidich AB, Kokkali S, Arvanitidou M. Efficacy and safety of tigecycline for the treatment of infectious diseases: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2011; 11:834-44.
147. Prasad P, Sun J, Danner RL, Natanson C. Excess Deaths Associated With Tigecycline After Approval Based on Noninferiority Trials. *Clin Infect Dis* 2012; 54:1699-709.
148. McGovern PC, Wible M, El-Tahtawy A, Biswas P, Meyer RD. All-cause mortality imbalance in the tigecycline phase 3 and 4 clinical trials. *Intern J Antimicrob Agents* 2013; 41:463-7.
149. Vardakas KZ, Rafailidis PI, Falagas ME. Effectiveness and Safety of Tigecycline: Focus on Use for Approved Indications. *Clin Infect Dis* 2012; 54:1672-3.
150. Tygacil-Pfizer. <http://labeling.pfizer.com/showlabeling.aspx?id=491>. Accessed 12 march 2015.
151. Cunha BA, McDermott B, Nausheen S. Single daily high-dose tigecycline therapy of a multidrug-resistant (MDR) *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter aerogenes* nosocomial urinary tract infection. *J Chemother* 2007; 19:753-4.
152. Dandache P, Nicolau DP, Sakoulas G. Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* meningitis. *Infect Dis Clin Pract* 2009; 17:66-8.
153. Humphries RM, Kelesidis T, Dien Bard J, Ward KW, Bhattacharya D, Lewinski MA. Successful treatment of pan-resistant *Klebsiella pneumoniae* pneumonia and bacteraemia with a combination of high-dose tigecycline and colistin. *J Med Microbiol* 2010; 59:1383-6.
154. De Pascale G, Montini L, Pennisi MA, Bernini V, Maviglia R, Bello G et al. High dose tigecycline in critically ill patients with severe infections due to multidrug-resistant bacteria. *Critical Care* 2014, 18:R90
155. Masada E, Suárez de la Rica A, Anillo V, Salgado P, Tamayo E, García Bernedo CA et al. A practice-based observational study identifying factors associated with the use of high-dose tigecycline in the treatment of secondary peritonitis in severely ill patients. *Rev Esp Quimioter* 2015; 28:47-53.
156. Falagas ME, Vardakas KZ, Tsiveriotis KP, Triarides NA, Tansarli GS. Effectiveness and safety of high-dose tigecycline-containing regimens for the treatment of severe bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 44:1-7.
157. Guirao X, Sánchez García M, Bassetti M, Bodmann KF, Dupont H, Montravers P et al. Safety and tolerability of tigecycline for the treatment of complicated skin and soft-tissue and intra-abdominal infections: an analysis based on five European observational studies. *J Antimicrob Agents* 2013; 68 Suppl 2: ii37-ii44.
158. Routsis C, Kokkoris S, Douka E, Ekonomidou F, Karaikos I, Giamarelou H. High-dose tigecycline-associated alterations in coagulation parameters in critically ill patients with severe infections. *Int J Antimicrob Agents* 2015; 45:90-3.

Vicente Aguadero¹
Carmen González-Velasco²
Ana Vindel³
Miguel González-Velasco⁴
Juan José Moreno¹

An analysis of the association between genotype and antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates

¹Division of Clinical Microbiology, Mérida Hospital. Mérida, Badajoz, Spain.

²Division of Clinical Microbiology, Don Benito-Villanueva Hospital. Badajoz, Spain.

³Nosocomial Infections Laboratory, National Centre of Microbiology. Majadahonda, Madrid, Spain.

⁴Mathematics Department, University of Extremadura. Badajoz, Spain.

ABSTRACT

Genotyping methods are useful resources for the surveillance, detection, prevention and control of multidrug-resistant nosocomial agents, such as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). An understanding of the association between genotype and antibiotic susceptibility in MRSA clones may be useful in the surveillance of MRSA and to avoid inappropriate treatment future resistance. We genotyped MRSA clinical isolates from the Extremadura region of Spain using pulsed field electrophoresis (PFGE) and analyzed the spectrum of antibiotic susceptibility for each isolate to determine whether resistance is associated with specific genotypes. PFGE revealed six major genotypes: E8a (25%), E7b (17%), E7a (12%), E8B (8%), E10 (6%), and E20 (4%). Isolates with the genotypes E8a and E10 exhibit higher resistance ratios for levofloxacin than isolates with the other major pulsotypes. Similar results were obtained for isolates with the E20 pulsotype with respect to mupirocin. Although we identified no vancomycin-, tigecycline-, linezolid- or daptomycin-resistant strains, we observed significant differences in the mean MIC values obtained for some of these drugs among the major genotypes. Specifically, isolates with the E7b, E8b, and E20 genotypes have significantly higher MICs of tigecycline, vancomycin and linezolid, respectively, than the most sensitive pulsotypes. Isolates with the E8b profile also exhibit a significantly higher rate of reduced vancomycin susceptibility (RVS) (i.e., MIC between 1 and 2 mg/L) than clones with the E10 and E8a profiles. In conclusion, we report associations between genotype and antibiotic sensitivity that should be considered in programs for monitoring and controlling MRSA in health care settings.

Análisis de la asociación entre genotipos y resistencia a múltiples antimicrobianos en aislados de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina

RESUMEN

Los métodos de genotipaje son un recurso útil para la vigilancia, detección, prevención y control de agentes nosocomiales con multirresistencia antibiótica, como es *Staphylococcus aureus* resistente a metilina (SARM). Nuestro grupo lleva a cabo el genotipaje mediante Electroforesis en Campo Pulsado (PFGE) de cepas SARM productoras de infección en la región de Extremadura (España), y realiza un estudio de asociación de los clones obtenidos, con respecto a la sensibilidad antibiótica mostrada por las cepas genotipadas, con el objetivo de conocer si existen resistencias que puedan asociarse específicamente a genotipos concretos. PFGE revela la existencia de 6 genotipos mayoritarios: E8a (25%), E7b (17%), E7a (12%), E8b (8%), E10 (6%), E20 (4%). A través del test Exacto de Fisher determinamos que los genotipos E8a y E10 se inclinan hacia ratios de resistencia mayores para levofloxacino en comparación a los mostrados por otros pulsotipos mayoritarios. De manera análoga ocurre para el pulsotipo E20 con mupirocina. Aunque no se encuentran cepas resistentes para vancomicina, tigeciclina, linezolid y daptomicina, encontramos en los tres primeros, diferencias significativas en el valor medio de CMI obtenido en los diferentes genotipos mayoritarios. Concretamente E7b, E8b y E20 presentan CMI significativamente más altas con respecto a tigeciclina, vancomicina y linezolid, respectivamente, en relación a los pulsotipos más sensibles. Además el perfil E8b muestra un mayor número de cepas con sensibilidad disminuida a vancomicina (SDV) (CMI entre 1 y 2 mg/L) que los clones E10 y E8a, de manera significativa. Creemos que esta información puede resultar útil en la vigilancia de la sensibilidad antibiótica de SARM en nuestro medio, para evitar tratamientos inadecuados y/o futuras resistencias.

Correspondence:
Vicente Aguadero Acera
Division of Clinical Microbiology, Mérida Hospital.
Miguel Servet Street S/N. 06800. Mérida (Badajoz, Spain).
Phone: +34924381000.
E-mail: vicente.aguadero@gmail.com

INTRODUCTION

Increasing resistance of microorganisms to antimicrobial drugs is a growing global public health problem, particularly among microorganisms that cause nosocomial infections. Antimicrobial resistance leads to increased morbidity, mortality, and hospital costs¹⁻⁴. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the primary causes of nosocomial infections. Because MRSA infection typically occurs in patients with serious health conditions, it is considered a health care-associated infection^{5,6}. The progressive increase of glycopeptide-resistant MRSA isolates^{7,8} and isolates resistant to MRSA-specific antibiotics, such as daptomycin and linezolid⁹⁻¹¹, highlights the importance of infection control measures in healthcare settings. Thus, genotyping methods have become essential elements in epidemiological analyses, as powerful tools that complement the strategies used to fight the spread of infectious diseases and facilitate the implementation of new programs for the detection, control and prevention of outbreaks^{12,13}.

The aim of our study is to assess the antimicrobial sensitivity of MRSA strains causing infection in the Extremadura region of Spain and to study the clonality of these strains by genotyping them using pulsed field electrophoresis (PFGE), the gold standard method for molecular typing of MRSA strains. We also asked whether antibiotic resistance is associated with a particular genotype, a question that has not been addressed by previous studies. The phenomenon of resistance to vancomycin is particularly important. Although in our setting, MRSA strains exhibiting vancomycin resistance (VRSA) or intermediate resistance (VISA) have not been reported^{14,15}, strains with a MIC for vancomycin between 1 and 2 mg/L are frequently isolated. Treatment of these strains with vancomycin is frequently associated with an unsatisfactory clinical outcome^{10,16,17}.

MATERIAL AND METHODS

Collection of bacterial isolates. Extremadura is located in the southwest region of Spain, with a population of 1 million inhabitants. Extremadura is divided into eight Health Areas, and each Health Area has a hospital. Between January and December 2010, all MRSA isolates from clinical specimens processed during the routine work of each hospital were sent to the Division Microbiology at Merida Hospital. The strains originated from general swabs, blood, urine, respiratory specimens, catheter, and nasal swabs. A total of 309 isolates were collected, and we conducted stratified random sampling to select a sample of 100 strains, which proportionally reflected the eight Health Areas, for genotyping.

Antibiotic susceptibility study. Each isolate was subjected to a susceptibility analysis using the following antibiotics: gentamicin, tobramycin, levofloxacin, erythromycin, clindamycin, quinupristin/dalfopristin (QD), teicoplanin, fosfomicin, nitrofurantoin, fusidic acid, mupirocin, rifampin, and trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT). Susceptibility was tested by microdilution in broth using the AST-588 card in the automated Vitek 2® system (Biomerieux, Geneva, Switzerland). For each

isolate, E-test strips were used to determine the MICs for tigecycline, vancomycin, daptomycin and linezolid, which are specifically indicated for MRSA infections. For each strain, we prepared a microbial suspension in the range of 0.5-0.6 McFarland standard. The suspensions were plated on 15 cm plates containing MH medium and the cross-shaped E-test strips for the four antibiotics. The plates were incubated for 24h at 37°C, and the MIC was determined for each antibiotic.

Genotyping using PFGE. The MRSA isolates were genotyped using PFGE following Smal digestion of chromosomal DNA, which was prepared using the protocol described by Cuevas et al.¹⁸. Analysis of the gels was performed according to the criteria described by Tenover et al.¹⁹, and a dendrogram was constructed with Molecular Analyst Software® (Bio-Rad, Hercules, California, USA) using the Dice correlation coefficient²⁰ and the unweighted pair-group method with averages with a tolerance position of 0.8%. A PFGE type was assigned to each isolate according to the criteria described by Vindel et al.²¹.

Statistical analysis. Statistical tests, including the Chi-square test, Fisher's exact test, ANOVA, and Tukey's test, were performed using the SPSS 15.0. Software® (IBM, Armonk, New York, USA). The false discovery rate (FDR) test was performed using Statistical Software and Programming Language R 3.0.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

RESULTS

The molecular analysis of the 100 MRSA strains revealed 27 pulsotypes. The following three genotypes accounted for 54% of the isolates: E8a (25%), E7b (17%) and E7a (12%). The remaining 46% of the isolates were distributed among 24 distinct genotypes. Of these genotypes, 8 genotypes corresponded to patterns of bands that were previously described and assigned names: E8b (8%), E10 (6%), E20 (4%), E13 (3%), A1 (1%), E16 (1%), E19 (1%), and E17 (1%). We obtained up to 16 patterns with sporadic profiles that were represented by only a single isolate. Three sporadic patterns were observed in more than one isolate. These patterns were named "sporadic," followed by a number designating their order of appearance. Thus, we observed Sporadic 1 in 3% of isolates, Sporadic 2 in 3% of isolates, and sporadic 3 in 2% of isolates. The 16 sporadic patterns that were represented by only a single isolate were not assigned a specific identification suffix.

Tables 1 and 2 show the susceptibility ratios for the antibiotics tested using the Vitek® system for each of the described pulsotypes. The Chi-square test revealed significant differences in susceptibility and resistance ratios between different genotypes for gentamicin ($p = 0.001$), levofloxacin ($p = 0.001$) and mupirocin ($p = 0.001$). However, when a post-hoc pairwise comparison of genotypes was performed using the FDR method, no significant differences were observed between pulsotypes for these three antibiotics. The combination of this pairwise comparison with Fisher's exact statistic revealed the following important trends: a) Isolates with the most frequently observed genetic profile (i.e., E8a) and with profiles ESP1 and E10 have a significantly higher rate of levofloxacin

Table 1 Susceptibility and resistance ratios obtained for each pulsotype (with more than one isolate) in antibiotics tested by microdilution in broth.

Pulsotype	Total isolates	GNT		TBM			LVF			ERT		CLN		QN		FOS		NTR		FUS		RIF		SXT		MUP	
		S	R	S	R	I	S	R	I	S	R	S	R	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	R
		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
E8a	25	100	0	16	84	0	0	60	40	44	56	76	24	100	92	8	100	100	0	100	0	100	0	100	100	0	
E7b	17	100	0	12	88	0	0	94	6	12	88	88	12	100	88	12	100	100	0	100	0	100	0	100	94	6	
E7a	12	100	0	8	92	0	0	100	0	33	67	58	42	100	75	25	100	100	0	100	0	100	0	100	100	0	
E8b	8	88	12	25	63	12	0	100	0	25	75	50	50	100	88	12	100	88	12	88	12	100	100	0	100	0	
E10	6	100	0	17	83	0	0	50	50	33	67	83	17	100	100	0	100	100	0	100	0	100	0	100	83	17	
E20	4	75	25	25	75	0	0	75	25	0	100	75	25	100	50	50	100	100	0	100	0	100	0	100	50	50	
ESP 1	3	100	0	0	100	0	0	33	67	67	33	100	0	100	67	33	100	100	0	100	0	100	0	100	100	0	
ESP 2	3	100	0	33	67	0	0	67	33	33	67	33	67	100	100	0	100	100	0	100	0	100	0	100	100	0	
E13	3	100	0	100	0	0	0	100	0	100	0	100	0	100	100	0	100	100	0	100	0	100	0	100	100	0	
ESP 3	2	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	100	100	100	0	100	100	0	100	0	100	0	100	100	0	

S: Susceptible, R: Resistant. GNT: Gentamicin, TBM: Tobramycin, LVF: Levofloxacin, ERT: Erythromycin, CLN: Clindamycin, QN: Quinupristin-Dalfopristin, FOS: Fosfomicin, NTR: Nitrofurantoin, FUS: Fusidic Acid, RIF: Rifampicin, SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole, MUP : Mupirocin. In bold, the resistance and susceptibility significant ratios by pairwise comparison with E.Fisher test.

Table 2 Patterns of susceptibility antibiotic obtained in pulsotype represented by a single isolate, for antibiotics tested by microdilution in broth.

Pulsotype	Total isolates	GNT	TBM	LVF	ERT	CLN	QN	FOS	NTR	FUS	RIF	SXT	MUP
A1	1	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
ESP	1	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ESP	1	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ESP	1	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E19	1	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ESP	1	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
ESP	1	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
ESP	1	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
ESP	1	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
ESP	1	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
E16	1	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
ESP	1	S	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S
ESP	1	R	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S	R
ESP	1	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S
ESP	1	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R
E17	1	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R

S: Susceptible, R: Resistant. GNT: Gentamicin, TBM: Tobramycin, LVF: Levofloxacin, ERT: Erythromycin, CLN: Clindamycin, QN: Quinupristin-Dalfopristin, FOS: Fosfomicin, NTR: Nitrofurantoin, FUS: Fusidic Acid, RIF: Rifampicin, SXT: Trimethoprim-sulfamethoxazole, MUP : Mupirocin.

Table 3		Statistical parameter values for each genotype represented by more than one isolated, relative to the MIC (mg/L) of particularly suitable antibiotics for MRSA obtained by E-test.			
		Tigecycline	Daptomycin	Vancomycin	Linezolid
ESP 3	N	2	2	2	2
	Maximum	0.125	0.094	1	0.5
	Mean	0.125	0.079	1	0.44
E10	N	6	6	6	6
	Maximum	0.19	0.19	1.5	2
	Mean	0.142	0.136	1.2	1.042
ESP 2	N	3	3	3	3
	Maximum	0.25	0.19	1.5	1.5
	Mean	0.167	0.147	1.2	1.083
E13	N	3	3	3	3
	Maximum	0.19	0.094	1	1
	Mean	0.19	0.094	0.9	0.917
E20	N	4	4	4	4
	Maximum	0.19	0.25	2	0.75
	Mean	0.19	0.15	1.6	0.625
E7a	N	12	12	12	12
	Maximum	0.25	0.38	2	2
	Mean	0.196	0.157	1.4	1.386
E7b	N	17	17	17	17
	Maximum	0.38	0.25	2	2
	Mean	0.263	0.153	1.4	1.426
E8a	N	25	25	25	25
	Maximum	0.38	0.19	1.5	2
	Mean	0.205	0.123	1.3	1.12
E8b	N	8	8	8	8
	Maximum	0.38	0.25	2	2
	Mean	0.236	0.177	1.6	1.469
ESP 1	N	3	3	3	3
	Maximum	0.25	0.19	1.5	2
	Mean	0.23	0.147	1.5	1.5

In bold, mean MIC significant by pairwise comparison with test Fisher's exact.

resistance (40, 67, and 50% of isolates with intermediate sensitivity, respectively) than isolates with the genetic profiles E7b and E7a (E8a-E7b, $p = 0.016$; E8a-E7a, $p = 0.015$; ESP1-E7b, $p = 0.029$; ESP1-E7a, $p = 0.029$; E10-E7b, $p = 0.040$; E10-E7a, $p = 0.025$). b) A comparison of isolates with the E20 genotype to isolates with different genotypes revealed that isolates with the E20 genotype have a significantly higher rate of mupirocin resistance than isolates with the genotypes E8a ($p = 0.015$) and E7a ($p = 0.050$).

Table 4		MIC values for particularly suitable antibiotics for MRSA infection, obtained for the pulsotypes represented by a single isolate.			
		MIC (mg/L)			
		Tigecycline	Daptomycin	Vancomycin	Linezolid
A1		0.125	0.125	1	0.75
E16		0.25	0.19	1.5	2
E17		0.25	0.19	1.5	2
ESP		0.25	0.25	1.5	1.5
ESP		0.25	0.094	1	0.75
ESP		0.25	0.125	1.5	1.5
ESP		0.25	0.25	1.5	2
ESP		0.19	0.125	1.5	1
ESP		0.19	0.094	1	0.75
ESP		0.19	0.125	1.5	0.75
ESP		0.125	0.125	1	0.75
ESP		0.19	0.125	1	0.5
ESP		0.125	0.125	0.38	0.5
E19		0.125	0.125	1	0.38
ESP		0.25	0.125	1	2
ESP		0.25	0.094	1	0.75
ESP		0.19	0.125	1	0.5

Differences in susceptibility and resistance ratios between pulsotypes were not statistically significant for the remaining antibiotics tested using the Vitek 2® system: tobramycin ($p = 0.622$), erythromycin ($p = 0.150$), clindamycin ($p = 0.208$), fosfomicin ($p = 0.257$), fusidic acid ($p = 0.993$), and rifampicin ($p = 0.993$). It is worth noting that no resistant strains were observed for nitrofurantoin, QD, and SXT.

We observed highly variable sensitivity profiles for the set of pulsotypes represented by a single isolate (table 2). These profiles ranged from genotypes that were sensitive to most of the tested antibiotics, such as A1 (i.e., only mupirocin-resistant) and E19 (i.e., only tobramycin- and levofloxacin-resistant), to genotypes that were resistant to most of the test antibiotics, such as E17 (i.e., resistant to gentamicin, tobramycin, levofloxacin, erythromycin, clindamycin, mupirocin, and fosfomicin).

The E-test method for the determination of MICs for antibiotics that are particularly suitable for MRSA infection in each of the genotyped MRSA isolates failed to identify strains resistant to linezolid, tigecycline, daptomycin or vancomycin (tables 3 and 4). However, 61% of the isolates were characterized as RVS strains (table 5).

To evaluate differences in the MICs for vancomycin and tigecycline between different genotypic profiles, ANOVA was used. The results of this test confirm that these differences are

Table 5	Proportions of RVS isolates on each majority genotype.	Vancomycin MIC (mg/L)	
		<1	>1
E10	n° (%)	4 (66.7)	2 (33.3)
	% of total	4	2
E7a	n° (%)	2 (16.7)	10 (83.3)
	% of total	2	10
E7b	n° (%)	4 (23.5)	13 (76.5)
	% of total	4	13
E8a	n° (%)	12 (48)	13 (52)
	% of total	12	13
E8b	n° (%)	0 (0)	8 (100)
	% of total	0	8
E20	n° (%)	0 (0)	4 (100)
	% of total	0	4
Minority profiles	n° (%)	17(60.7)	11 (39.3)
	% of total	17	11
TOTAL	n° (%)	39 (39)	61 (61)
	% total	39	61

In bold, ratios significant by pairwise comparison with test E. Fisher.

statistically significant (vancomycin, $p = 0.004$; tigecycline, $p = 0.010$). We subsequently performed the post-hoc Tukey's test, with the following significant results (table 3): a) No major genotype has an MIC of vancomycin or tigecycline that is significantly higher than that of any of the other major genotypes. b) The mean MIC value of tigecycline in isolates with the E7b pulsotype is significantly higher than that of isolates with the E10 pulsotype ($p = 0.008$). c) The mean MIC of vancomycin in isolates with the E8b pulsotype is significantly higher than that of isolates with the E8a ($p = 0.018$) and E10 ($p = 0.030$) pulsotypes.

We calculated the proportion of RVS isolates within each major genotype (table 5), and used Fisher's exact test to identify differences in these ratios between the major pulsotypes. The results indicated that these differences are significant ($p = 0.002$). The proportion of isolates with the E8b genetic profile that are characterized as RVS is significantly different from that of isolates with the E10 ($p = 0.015$) and E8a ($p = 0.030$) profiles, as indicated by the post-hoc pairwise comparison using Fisher's exact test (table 5). However, using the FDR method, no significant differences in the proportion of RVS isolates were obtained between pulsotypes.

To evaluate differences in the MICs values for linezolid and daptomycin between the major genotypic profiles, we used the Kruskal-Wallis test. The results indicated that these differences are statistically significant for linezolid ($p = 0.034$)

but not for daptomycin ($p = 0.96$). To further analyze differences in linezolid resistance, pairwise comparisons were performed using the FDR method. The results indicated that the mean MIC value for linezolid in isolates with the E20 pulsotype is significantly lower than that observed in isolates with the E7a ($p = 0.05$), E7b ($p = 0.038$), and E8b ($p = 0.038$) profiles (table 3).

DISCUSSION

An analysis of the statistical results obtained using the FDR method revealed no significant differences in the resistance ratios exhibited by different genotypes for any of the antibiotics tested using the Vitek® system. However, the results obtained using Fisher's exact method indicated that the E8a and E10 genotypes exhibit higher resistance rates for levofloxacin than the other major pulsotypes. Similar results were obtained for the E²⁰ pulsotype with respect to mupirocin resistance. Genotype-associated susceptibility of MRSA isolates to gentamicin, tobramycin, erythromycin, clindamycin, fosfomicin, fusidic acid, and rifampin was not detected. We failed to detect resistance to the four antibiotics that are (i.e., vancomycin, tigecycline, daptomycin, and linezolid). However, because of the importance of antimicrobial sensitivity surveillance (i.e., monitoring increases in MIC) to therapeutic efficacy^{16,17,22,23} it may be helpful to understand the associations between a particular genotype and reduced susceptibility to these antibiotics, which are commonly used in the treatment of MRSA in outbreaks of hospital infections and in severe community infections²⁴⁻²⁶. For vancomycin, tigecycline and linezolid, we found significant differences between the mean MIC values of the major genotypes. Isolates with the E7b genotype exhibit a significantly elevated MIC of tigecycline, isolates with the E8b genotype exhibit a significantly elevated MIC of vancomycin, and isolates with the E20 genotype exhibit a significantly reduced MIC of linezolid.

It is worth noting that none of the major genotypes had an MIC for any of the that was significantly higher than that of all the other major genotypes. Thus, the available data is not sufficient to establish priority antibiotics for MRSA treatment in a particular hospital or Health Area beyond the therapeutic indications attributed to each antibiotic according to patient clinical presentation (i.e., vancomycin in patients with bacteremia, linezolid in patients with pneumonia, tigecycline in patients with skin and soft tissue infections, and daptomycin in patients with bacteremia and endocarditis²⁷). However, because the data obtained in this study indicate that isolates with certain pulsotypes exhibit higher MICs to some of these antibiotics, surveillance of antibiotic susceptibility in MRSA strains is important to prevent future resistance^{28, 29}. Consistent with these conclusions, isolates with the E8b genotype exhibit a significantly elevated rate of RVS strains. In this case, 100% of the isolates have a vancomycin MIC of > 1mg/L. Because this reduced susceptibility is associated with treatment failure^{16,17,30}, we do not recommend treating a MRSA outbreak caused by this pulsotype with vancomycin. The same conclu-

sion can be made for isolates with the E20 pulsotype, of which 100% were also characterized as RVS. However, the low number of isolates of this genotype (i.e., only four isolates) makes this phenomenon a clear trend, which should be confirmed with a larger size sample.

We observed the presence of two MRSA genotypes in Extremadura, E17 and ESP, which are very infrequent (i.e., each observed in a single isolate) but highlight the existence of strains that exhibit antibiotic multiresistance. These isolates are resistant to gentamicin, tobramycin, levofloxacin, erythromycin, clindamycin, fosfomicin, and mupirocin (table 2) and exhibit reduced susceptibility to vancomycin and the highest recorded MIC of linezolid in the MRSA population studied (i.e., 2 mg/L) (table 4). These isolates have similar band profiles in PFGE, with only slight differences to distinguish them as different pulsotypes, and they have identical antibiotic resistance patterns. It is possible that the ESP isolate is a phylogenetic derivative of the E17 genotype. Although no previous studies have directly associated the E17 genotype with multidrug resistance and the number of isolates described in our study is small, the results reported here should be considered for future MRSA outbreaks.

In conclusion, although the correlations between MRSA genotypes and antibiotic susceptibility were not significant in post-hoc studies, the observed tendencies should be analysed in future studies with larger sample sizes.

REFERENCES

1. Stone PW, Braccia D, Larson E. Systematic review of economic analyses of health care-associated infections. *Am J Infect Control* 2005; 33:501-9.
2. Roberts RR, Scott RD, Hota B, Kampe LM, Abbasi F, Schabowski S, et al. Costs attributable to healthcare-acquired in hospitalized adults and a comparison of economic methods. *Med Care* 2010; 48:1026-35.
3. Hassan M, Tuckman HP, Patrick RH, Kountz DS, Kohn JL. Cost of hospital-acquired. *Hosp Top* 2010; 88:82-9.
4. Gould IM, Reilly J, Bunyan D, Walker A. Costs of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its control. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:1721-28.
5. Naimi TS, Le Dell K, Como-Sabetti K, Borchardt S, Boxrud D. Comparison of community- and health care-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA* 2003; 290: 2976-84.
6. Cercenado E, Ruiz de Gopegui E. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26(S13):19-24.
7. Tenover FC, Biddle JW, Lancaster MV. Increasing resistance to vancomycin and other glycopeptide in *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis* 2001; 7:327-32.
8. Appelbaum PC. Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30:398-408.
9. Tsiodras S, Gold HS, Sakoulas G, Eliopoulos GM, Wennersten C, Venkataraman L, et al. Linezolid resistance in a clinical isolate of *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 2001; 358:207-8.
10. Cercenado E. Update of antimicrobial resistance in Gram-positive microorganisms. *Med Clin (Barc)* 2010; 135(S3):10-5.
11. Picazo JJ, Betriu C, Culebras E, Rodríguez-Avial I, Gómez M, López-Fabal F; Grupo VIRA. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: changes in the susceptibility pattern to daptomycin during a 10-year period (2001-2010). *Rev Esp Quimioter* 2011; 4:107-11.
12. Versalovic J, Lupski JR. Molecular detection and genotyping of pathogens: more accurate and rapid answers. *Trends Microbiol* 2002; 10 (Suppl.): S15-S21
13. Singh A, Goering RV, Simjee S, Foley SL, Zervos MJ. Application of molecular techniques to the study of hospital infection. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19:512-30.
14. Picazo JJ, Betriu C, Rodríguez-Avial I, Culebras E, López F, Gómez M; Grupo VIRA. Comparative activity of daptomycin against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2010; 28:13-6.
15. Picazo JJ, Betriu C, Rodríguez-Avial I, Culebras E, López-Fabal F, Gómez M; VIRA Study Group. Comparative activities of daptomycin and several agents against staphylococcal blood isolates. Glycopeptide tolerance. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 70:373-9.
16. Howden BP, Ward PB, Charles PG, Korman TM, Fuller A, du Cros P, et al. Treatment outcomes for serious infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with reduced vancomycin susceptibility. *Clin Infect Dis* 2004; 38:521-8.
17. Soriano A, Marco F, Martínez JA, Pisos E, Almela M, Dimova VP, et al. Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2008; 46:193-200.
18. Cuevas O, Cercenado E, Bouza E, Castellares C, Trincado P, Cabrera R, et al. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: a multicentre prevalence. *Clin Microbiol Infect* 2007; 13:250-6.
19. Tenover FC, Arbeit R, Goering R, Mickelsen P, Murray B, Persing DH, et al. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J Clin Microbiol* 1995; 33:2233-9.
20. Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J Clin Microbiol* 1988; 26:2465-6.
21. Vindel A, Trincado P, Gómez E, Cabrera R, Boquete T, Solá C, et al. Prevalence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spanish hospitals between 1996 and 2002. *J Clin Microbiol* 2006; 44:266-270.
22. Livermore DM. Linezolid in vitro: mechanism and antibacterial spectrum. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51 Suppl 2:i9-16.
23. Sader HS, Fey PD, Limaye AP, Madinger N, Pankey G, Rahal J, et al. Evaluation of vancomycin and potency trends (creep) against isolates collected in nine U.S. medical centers from 2002 to 2006. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:4127-32

24. Pantosti A, Venditti M. What is MRSA?. *Eur Respir J*. 2009; 34:1190-6.
25. Gould IM, David MZ, Esposito S, Garau J, Lina G, Mazzei T, et al. New insights into methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pathogenesis, treatment and resistance. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 39:96-104.
26. Watkins RR, Lemonovich TL. Diagnosis and management of community-acquired pneumonia in adults. *Am Fam Physician* 2011; 83:1299-306.
27. Micek ST. Alternatives to vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Clin Infect Dis* 2007; 45:S184-S189.
28. Moise PA, Smyth DS, El-Fawal N, Robinson DA, Holden PN, Forrest A, et al. Microbiological effects of prior vancomycin use in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:85-90.
29. Gasch O, Camoez M, Dominguez MA, Padilla B, Pintado V, Almirante B, et al. Predictive factors for mortality in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infection: impact on outcome of host, microorganism and therapy. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19:1049-57.
30. Abdelhady W1, Bayer AS, Seidl K, Nast CC, Kiedrowski MR, Horswill AR, et al. Reduced vancomycin susceptibility in an in vitro catheter-related biofilm model correlates with poor therapeutic outcomes in experimental endocarditis due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57:1447-54.

Cristina Gómez-Camarasa¹
Carmen Liébana-Martos¹
José María Navarro-Mari¹
José Gutiérrez-Fernández^{1,2}

Detección de uropatógenos inusuales durante un periodo de 3 años en un hospital regional

¹Laboratorio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada.

²Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina. Universidad de Granada.

RESUMEN

Las infecciones del tracto urinario (ITUs) constituyen una de las patologías infecciosas más frecuentes tanto en la comunidad como en el ámbito hospitalario. La etiología de las ITUs está bien establecida pero puede variar dependiendo de diversos factores como la edad, la existencia de enfermedades de base como diabetes, maniobras instrumentales como la cateterización urinaria o la exposición a antibióticos y hospitalizaciones previas. Se revisaron retrospectivamente los casos diagnosticados de ITUs por microorganismos poco usuales durante un periodo de 3 años (2011-2013) en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Virgen de las Nieves de Granada (España), siguiendo un procedimiento normalizado de trabajo, y describimos 4 casos causados por *Trichosporon asahii*, *Aerococcus urinae*, *Pasteurella bettyae* y *Neisseria sicca*. Concluimos la importancia de disponer en los Laboratorios de Microbiología Clínica de las herramientas necesarias para llegar a una correcta detección de las ITUs e identificación de patógenos usuales e infrecuentes.

Detection of unusual uropathogens during a period of three years in a regional hospital

ABSTRACT

Urinary tract infections (UTIs) are one of the most frequent both in the community and in hospitals infectious diseases. The etiology of urinary tract infections is well established but may vary depending on various factors such as age, the presence of underlying diseases such as diabetes, instrumental procedures such as urinary catheterization or exposure to antibiotics or previous hospitalizations. UTIs diagnosed cases were retrospectively reviewed for unusual microorganisms over a

period of 3 years (2011-2013) in the Microbiology Laboratory of the Hospital Virgen de las Nieves of Granada (Spain), following the standard operating procedure, which we describe four cases caused by *Trichosporon asahii*, *Aerococcus urinae*, *Pasteurella bettyae* and *Neisseria sicca*. Hence the importance of having in the Clinical Microbiology Laboratory of the tools necessary to detection UTIs and reach a correct identification in all cases.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto urinario (ITUs) constituyen una de las patologías infecciosas más frecuentes tanto en la comunidad como en el ámbito hospitalario¹.

Su etiología se ha considerado bien establecida durante décadas. *Escherichia coli* continúa siendo el uropatógeno más frecuentemente aislado seguido de especies de *Proteus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Serratia marcescens* y *Morganella morganii*². El patrón de resistencia a los antibióticos de estos microorganismos está cambiando³. Además diversos factores como la edad, la existencia de enfermedades de base como diabetes, trasplante de órganos, maniobras instrumentales como la cateterización urinaria o la exposición a antibióticos u hospitalizaciones previas hacen que la etiología de las ITUs varíe²⁻⁵. Para el diagnóstico de las ITUs el urocultivo continúa siendo el "gold standard", permitiéndonos la cuantificación, identificación y realización del antibiograma, pero es un método costoso y que requiere tiempo, ya que un alto porcentaje de los cultivos son negativos. Es por ello que se han introducido analizadores automáticos como el Sysmex UF-1000i (TOA Medical Electronics, Kobe, Japan) que realizan un cribado rápido, de forma que a las muestras que superan los puntos de corte establecidos⁶⁻⁸ se les realiza cultivo. Además gracias a la introducción de nuevas tecnologías en la rutina de los Laboratorios de Microbiología, tal como el sistema Biotyper® de espectrometría de masas (Bruker Daltonics, USA) es posible la identificación rápida de uropatógenos menos comunes y difíciles de identificar por los métodos clásicos⁹. En este trabajo se revi-

Correspondencia:
José Gutiérrez Fernández
Laboratorio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves
Avenida de las Fuerzas Armadas, 2
18021 Granada
E-mail: josegf@ugr.es

saron retrospectivamente los casos diagnosticados en nuestro laboratorio de ITUs por microorganismos poco usuales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Presentamos 4 casos de ITUs por microorganismos poco usuales: *Trichosporon asahii*, *Aerococcus urinae*, *Pasteurella bettyae* y *Neisseria sicca* detectados en nuestro Laboratorio de Microbiología mediante el procedimiento normalizado de trabajo (cribado automatizado Sysmex UF-1000i, cultivo en medio cromogénico CHROMagar Orientation® y agar Sangre Columbia® (Becton Dickinson) en los pacientes con enfermedad renal de base, y espectrometría de masas durante los años 2011-2013.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características más destacadas de estos cuatro casos se resumen en la tabla 1. Se trata de 4 varones con edades comprendidas entre los 28 y 69 años, dos de ellos trasplantados renales, un paciente con cáncer de próstata y otro paciente parapléjico con hidronefrosis renal.

T. asahii y otros miembros del género *Trichosporon* son levaduras que se caracterizan por la producción de verdaderas hifas o pseudohifas, artroconidias y blastoconidias¹⁰, y su distribución es muy ubicua: suelo, agua, restos vegetales, animales y aves. En el ser humano puede formar parte de la flora comensal de la boca, piel y uñas¹¹. En un estudio realizado sobre 1004 varones sanos se ha visto que el 11% de ellos están colonizados por *Trichosporon* en la piel de la zona perigenital (zona perianal, inguinal y escrotal)¹². *T. asahii* es un agente oportunista emergente actualmente. Se han descrito casos de infecciones sistémicas y otras como infecciones del tracto urinario (sobre todo en pacientes con obstrucciones del tracto urinario, pacientes portadores de catéter o con terapia antibiótica prolongada¹³, agravando cuadros de disfunción re-

nal¹⁴), neumonitis, abscesos cerebrales, meningitis, otomicosis y peritonitis en individuos inmunodeprimidos, principalmente oncohematológicos, así como lesiones cutáneas y onicomosis en individuos inmunocompetentes¹⁵⁻¹⁷.

En nuestro caso se trata de un paciente parapléjico de 43 años en tratamiento con baclofeno en perfusión continua por espasmos musculares, con hidronefrosis bilateral, que ingresa en la Unidad de Cuidados Intensivos por sospecha de sepsis de origen urinario. Al ingreso se solicita urocultivo y analítica mostrando leucocitosis con desviación a la izquierda y sedimento patológico, por lo que se inicia tratamiento con fosfomicina 1 g/8h intravenoso. Se realiza radiografía de abdomen no observándose ninguna anomalía. Se procede al envío de muestras de orina y hemocultivos al Laboratorio de Microbiología para su estudio siendo el urocultivo positivo con > 100.000 UFC/ml de *T. asahii* y con > 40 leucocitos/mm³ y los hemocultivos negativos. Por lo que se inicia tratamiento con fluconazol intravenoso. El urocultivo se negativizó 10 días más tarde con buena evolución del paciente.

T. asahii crece en medio Sabouraud-dextrosa con incubación a 30°C durante 24 horas como colonias cremosas rugosas (figura 1). Existen pocos estudios sobre la sensibilidad a *T. asahii*, pero los azoles suelen mostrar buena actividad frente a él¹⁸⁻²⁰. Los datos de sensibilidad antifúngica realizadas en nuestro caso mediante panel Sensititre YeastOne (Trek Diagnostic Systems, Inc., Westlake, OH) se muestran en la tabla 2. El paciente fue tratado con fluconazol iv con resultados satisfactorios ya que en el urocultivo enviado 10 días más tarde la muestra resultó negativo y el paciente se dio de alta.

Aerococcus es un género que comprende 7 especies, de las cuales *A. urinae* y *Aerococcus sanguinicola* son patógenos humanos emergentes causantes de infección del tracto urinario y de endocarditis infecciosa²¹, linfadenitis²² y espondilodiscitis²³. Hasta la introducción de la espectrometría de masas en los laboratorios de microbiología, el género *Aerococcus* se identificaba con dificultad y podía confundirse con el géne-

Tabla 1 Características de los pacientes con infección del tracto urinario.

Caso	Sexo	Edad	Ingreso/Servicio	Antecedentes personales	Diagnóstico	Agente causal	Tratamiento	Evolución
1	V	69	Urgencias	Cáncer próstata	ITU	<i>P. bettyae</i>	Fosfomicina	Favorable
2	V	62	Consulta trasplante	HTA, obesidad, artritis gotosa, insuficiencia renal crónica con trasplante renal.	Linfocele (causante compresión vía urinaria)	<i>A. urinae</i>	Ampicilina	Favorable
3	V	28	Nefrología	Insuficiencia renal crónica con trasplante renal, HTA secundaria, hiperparatiroidismo secundario, anemia.	Incontinencia urinaria permanente	<i>N. sicca</i>	Desconocido	Favorable
4	V	46	UCI Traumatología	Paraplejía, hidronefrosis lateral	Síndrome de disreflexia autónoma e ITU	<i>T. asahii</i>	Tratamiento inicial: Fosfomicina. Evolución: fluconazol.	Favorable

*V, Varón; HTA: hipertensión arterial; ITU: infección del tracto urinario; UCI: unidad de cuidados intensivos.

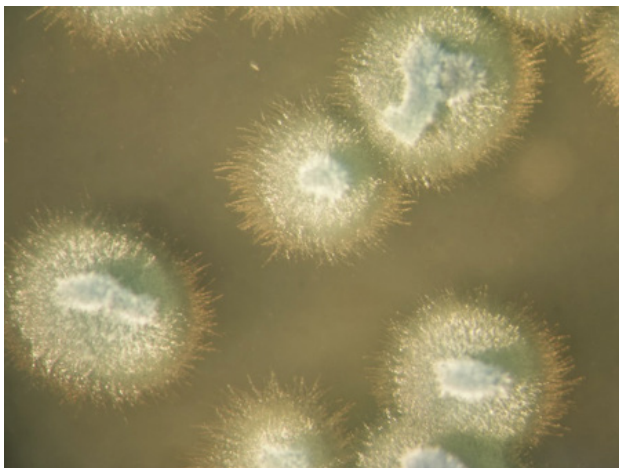
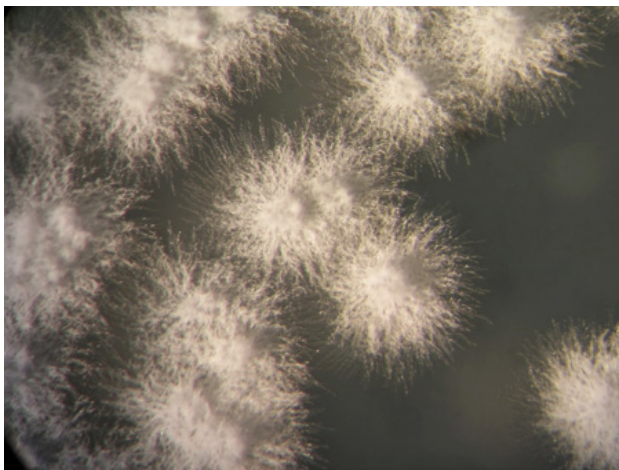
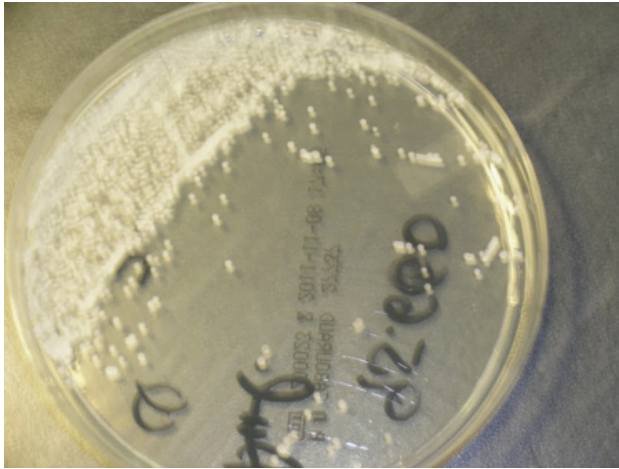


Figura 1 Colonias de *T. asahii* en medio Sabouraud-dextrosa.

ro *Streptococcus*. Esta diferencia es especialmente importante en los urocultivos donde el género *Streptococcus* suele ser contaminante habitual, mientras que el género *Aerococcus* es un patógeno productor de ITU²⁴. Se ha descrito *A. urinae* como

intrínsecamente resistente a sulfonamidas²⁵, característica común al género *Enterococcus*, pero según el medio utilizado, esta característica puede variar. Por lo que deben realizarse estudios de sensibilidad antibiótica a éste antes de ser administrado en el tratamiento de la infección urinaria²⁶. Además si estas infecciones no se tratan pueden causar serias complicaciones²⁷. La mayoría de los pacientes con ITU producida por esta especie, son pacientes de avanzada edad y con factores predisponentes tales como hiperplasia de próstata, constricción uretral o diabetes mellitus^{21, 28-30}. En nuestro caso se trata de un varón de 62 años trasplantado renal, con HTA, obesidad y artritis gotosa que presenta linfocel que le causa compresión de la vía urinaria presentando sintomatología de ITU con leucocituria. Se envía muestra de orina al laboratorio de Microbiología para su estudio. Tras 24 horas de incubación se observó crecimiento de más de 100.000 UFC/ml de colonias puntiformes, alfa hemolíticas en agar sangre y de color gris-verdoso (figura 2). La identificación definitiva como *A. urinae* se realizó mediante espectrometría de masas. En nuestro caso el antibiograma se realizó mediante técnica de difusión en agar siendo sensible a amoxicilina, amoxicilina-clavulánico, vancomicina y cefotaxima y resistente a fosfomicina y levofloxacino. El paciente fue tratado con ampicilina oral con un resultado satisfactorio.

P. bettyae es un cocobacilo gram-negativo anaerobio facultativo. Hasta la fecha no se han descrito casos de *P. bettyae*

Tabla 2 Estudio de sensibilidad *in vitro* de *T. asahii*.

	CMI (mg/L)
Anfotericina B	0,5
Anidulafungina	>8
Caspofungina	8
Flucitosina	2
Fluconazol	2
Itraconazol	0,25
Micafungina	>8
Posaconazol	0,25
Voriconazol	0,03

CMI: concentración mínima inhibitoria.

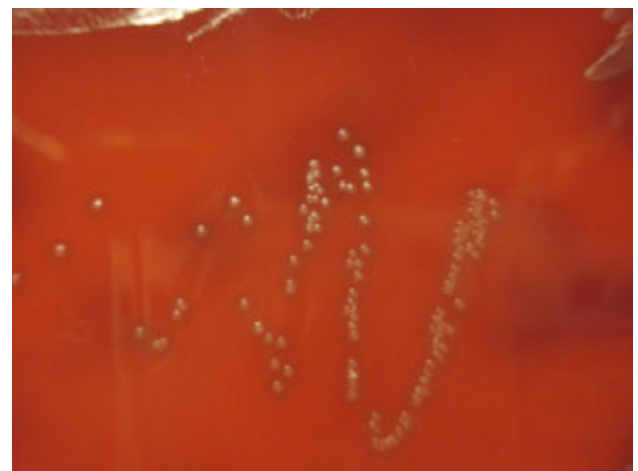


Figura 2 Crecimiento y detalle de morfología de las colonias en agar sangre de *A. urinae*.



Figura 3 Crecimiento en medio MPO, agar sangre y tinción de Gram de *P. bettyae*.



Figura 4 Identificación de *P. bettyae* mediante el sistema API NF (Biomerieux).

como agente causal de infecciones, pero sí otras especies de *Pasteurella* como *P. multocida*. Ésta forma parte de la flora oral normal de perros y gatos³¹, y por tanto, pueden ser causantes de infecciones de heridas o de tejidos blandos tras sufrir mordeduras o arañazos, pero también se han descrito casos de abscesos, artritis, meningitis, endocarditis, peritonitis, neumonía y sepsis³²⁻³⁴. Igualmente se han descrito casos de infección sin antecedentes de contacto previo con animales³⁵. Los casos descritos de ITUs por *P. multocida* son muy raros³⁶⁻⁴⁰. Normalmente ocurren en pacientes con enfermedades crónicas que tienen alguna alteración funcional o estructural del tracto urinario.

En nuestro caso se trata de un varón de 69 años con cáncer de próstata que sufre sintomatología de ITU. Se envía muestra de orina para su estudio al laboratorio de Microbiología la cual se procesa siguiendo el protocolo normalizado de trabajo. Tras 24 horas de incubación en medio cromogénico MPO crecieron colonias puntiformes de color azul-verdosas. La tinción de Gram mostró cocobacilos gramnegativos (figura 3). Para la identificación definitiva se utilizó el sistema API NF (Biomerieux, Madrid, España) (figura 4) y espectrometría de masas. El antibiograma se realizó mediante técnica difusión en agar con discos de amoxicilina-clavulánico, fosfomicina, cefuroxima y levofloxacino. El microorganismo fue sensible a todos los antibióticos testados.

N. sicca forma parte de la flora normal del tracto respiratorio superior y ocasionalmente se han aislado como causantes de procesos infecciosos como endocarditis, bacteriemia, meningitis, neumonía⁴¹, artritis, peritonitis, conjuntivitis, así como causante de absceso hepático o absceso en la glándula de Bar-

tolino⁴². No existen estudios donde impliquen a *N. sicca* como agente causal de infección del tracto urinario, por lo que estaríamos ante el primer caso descrito. En nuestro caso se trata de un varón de 28 años con insuficiencia renal crónica corregida con trasplante renal que presenta incontinencia urinaria permanente. Además el paciente presenta hipertensión secundaria, hiperparatiroidismo y anemia de los procesos crónicos.

La etiología de las infecciones del tracto urinario es muy diversa, y por tanto los laboratorios de Microbiología deben disponer de las herramientas adecuadas para llegar a la identificación correcta de todos aquellos agentes causantes

de infección. El empleo de un buen procedimiento normalizado de trabajo ha sido capaz de detectar el crecimiento de microorganismos inusuales en orina en pacientes con importantes patologías de base. Debemos tener presente nuevos o inusuales patógenos emergentes causantes de infecciones del tracto urinario, ya que su identificación y estudio de sensibilidad a los antimicrobianos es fundamental para instaurar un tratamiento rápido y adecuado al paciente, sobre todo en pacientes con enfermedades de base o con factores de riesgo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Foxman B, Barlow R, D'Arcy H, Gillespie B, Sobel JD. Urinary tract infection: self-reported incidence and associated costs. *Ann Epidemiol* 2000; 10: 509-15.
2. Ochoa Sangrador C, Eiros Bouza JM, Mendez CP, Inglada Galiana L; Grupo de Estudio de los Tratamientos Antibióticos. The etiology of urinary tract infections and the antimicrobial susceptibility of urinary pathogens. *Rev Esp Quimioter* 2005; 18: 124-35.
3. Jimenez-Pacheco A, Sampedro A, Martínez-Brocal A, Miranda-Casas C, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Evolution of the resistance to antibiotics of bacteria involved in urinary tract infections: a 7-year surveillance study. *Am J Infect Control* 2014; 42:1033-8.
4. Golsdstein FW. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections in France. Multicentre Stugy Group. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 112-7.
5. Ozkaya-Parlakay A, Karadag-Oncel E, CengizAB, Kara A, Yigit A, Gucer S, Gur D. *Trichosporon asahii* sepsis in a patient with pe-

- diatric malignancy. *J Microbiol Immunol Infect* 2013; S1684-1182(13)00018-2.
6. Gutiérrez-Fernández J, Lara A, Bautista MF, de Dios Luna J, Polo P, Miranda C, Navarro JM. Performance of the Sysmex UF100i system in screening for significant bacteriuria before quantitative culture of aerobic/facultative fast-growth bacteria in a reference hospital. *J Appl Microbiol* 2012; 113: 609-14.
 7. Gutiérrez-Fernández J, Riazzo C, Sanbonmatsu S, de Dios Luna J, Sorlózano A, Miranda C, Navarro JM. Sysmex UF-1000i performance for screening yeasts in urine. *APMIS* 2014; 122:324-8.
 8. Muñoz-Algarra M, Martínez-Ruiz R, Orden-Martínez B. Evaluation of the Sysmex UF-1000i automated system for the diagnosis of urinary tract infection. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2013; 31: 29-31.
 9. Sánchez-Juanes F, Siller Ruiz M, Moreno Obregón F, Criado González M, Hernández Egido S, de Frutos Serna M, González-Buitrago JM, Muñoz-Bellido JL. Pretreatment of Urine Samples with SDS Improves Direct Identification of Urinary Tract Pathogens with Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol* 2014; 52: 335-8.
 10. Heslop OD, Nyi Nyi MP, Abbott SP, Rainford LE, Castle DM, Coard KC. Disseminated trichosporonosis in a burn patient: meningitis and cerebral abscess due to *Trichosporon asahii*. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 4405-8.
 11. Otero V, Galán-Sánchez F, García-Agudo L, García-Tapia AM, Guerrero-Lozano I, Rodríguez-Iglesias MA. Fungemia due to *Trichosporon asahii* in a patient with hematological malignancy. *Rev Iberoam Micol* 2013; S1130-406.
 12. Silvestre AM, Miranda MAR, Camargo ZP. Trichosporon species isolated from the perigenital region, urine and catheters of a Brazilian population. *Braz J Microbiol* 2010; 41: 628-34.
 13. Treviño M, García-Riestra C, Areses P, García X, Navarro D, Suárez FJ, López-Dequidt IA, Zaragoza O, Cuenca-Estrella M. Emerging *Trichosporon asahii* in elderly patients: epidemiological and molecular analysis by the DiversiLab system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014; 33: 1497-503.
 14. Febré N, Silva V, Medeiros EA, Wey SB, Colombo AL, Fischman O. Microbiological characteristics of yeasts isolated from urinary tracts of intensive care unit patients undergoing urinary catheterization. *J Clin Microbiol* 1999; 37:1584-6.
 15. Antachopoulos C, Papakonstantinou E, Dotis J, Bibashi E, Tamiolaki M, Kolioukas D, Roilides E. Fungemia due to *Trichosporon asahii* in a neutropenic child refractory to amphotericin B: clearance with voriconazole. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005; 27: 283-5.
 16. Tapia PC. Trichosporon genus. *Rev Chilena Infectol* 2009; 26: 263-4.
 17. Rodrigues da S, de Faria RR, Guazzelli LS, Oliveira Fde M, Severo LC. Nosocomial infection due to *Trichosporon asahii*: clinical revision of 22 cases. *Rev Iberoam Micol* 2006; 23: 85-9.
 18. Walsh TJ, Melcher GP, Rinaldi MG, Lecciones J, McGough DA, Kelly P, Lee J, Callender D, Rubin M, Pizzo PA. *Trichosporon beigellii*: an emerging pathogen resistant to amphotericin B. *J Clin Microbiol* 1990; 28:1616-22.
 19. Chowdary A, Ahmad S, Khan ZU, Doval DC, Randhawa HS. *Trichosporon asahii* as an emerging etiologic agent of disseminated trichosporonosis: a case report and an update. *Ind J Med Microbiol* 2004; 22: 16-22.
 20. Rastogi VL, Nirvan PS. Invasive trichosporonosis due to *Trichosporon asahii* in a non-immunocompromised host: a rare case report. *Ind J Med Microbiol* 2007; 25: 59-61.
 21. Shelton-Dodge K, Vetter EA, Kohner PC, Nyre LM, Patel R. Clinical significance and antimicrobial susceptibilities of *Aerococcus sanguinicola* and *Aerococcus urinae*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 70: 448-51.
 22. Santos R, Santos E, Goncalves S, Marques A, Sequeira J, Abecasis P, Cadete M. Lymphadenitis caused by *Aerococcus urinae* infection. *Scand J Infect Dis* 2003; 35: 353-4.
 23. Astudillo L, Sailler L, Porte L, Lefevre JC, Massip P, Arlet-Suau E. spondylodiscitis due to *Aerococcus urinae*: first report. *Scand J Infect Dis* 2003; 35: 890-1.
 24. Rasmussen M. Aerococci and aerococcal infections. *J Infect* 2013; 66: 467-74.
 25. Senneby E, Petersson AC, Rasmussen M. Clinical and microbiological features of bacteraemia with *Aerococcus urinae*. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 546-50.
 26. Humphries RM, Lee C, Hindler JA. *Aerococcus urinae* and trimethoprim-sulfamethoxazole. *J Clin Microbiol* 2011; 49: 3934-5.
 27. Grude N, Jenkins A, Tveten Y, Kristiansen BE. Identification of *Aerococcus urinae* in urine samples. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9: 976-9.
 28. Schuur PM, Sabbe L, van der Wouw AJ, Montagne GJ, Buiting AG. Three cases of serious infection caused by *Aerococcus urinae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 368-71.
 29. Sierra-Hoffman M, Watkins K, Jinadatha C, Fader R, Carpenter JL. Clinical significance of *Aerococcus urinae*: a retrospective review. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 53: 289-92.
 30. Cattoir V, Kobal A, Legrand P. *Aerococcus urinae* and *Aerococcus sanguinicola*, two frequently misidentified uropathogens. *Scand J Infect Dis* 2010; 42: 775-80.
 31. Griego RD, Rosen T, Orengo if, Wolf JE. Dog, cat, and human bites: a review. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33: 1019-29.
 32. Weber DJ, Wolfson JS, Swartz MN, Hooper DC. *Pasteurella multocida* infections: report of 34 cases and review of the literature. *Medicine* 1984; 63: 133-54.
 33. Klein NC, Cunha BA. *Pasteurella multocida* pneumonia. *Semin Respir Infect* 1997; 12: 54-6.
 34. Boerlin P, Siegrist HH, Burnens AP, et al. Molecular identification and epidemiological tracing of *Pasteurella multocida* meningitis in a baby. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1235-7.
 35. Hubbert WT, Rosen MN. *Pasteurella multocida* infection in man unrelated to animal bite. *Am J Public Health Nations Health* 1970; 60: 1109-17.
 36. Komorowski RA, Farmer SG. *Pasteurella* urinary tract infections. *J Urol* 1974; 111:817-8.
 37. Baliah T, Netter E. *Pasteurella multocida* infection of urinary tract in patient with ileal loop. *Urology* 1977; 9: 294-5.

38. Conley FE. *Pasteurella* UTI. Clin Microbiol Newsletter 1983; 5:153-5.
39. Warren JS, Smith JW. *Pasteurella multocida* urinary tract infection. Arch Pathol Lab Med 1984; 108: 401-2.
40. Mann BA, Quenzer RW. *Pasteurella multocida* urinary tract infection. West J Med 1987; 147: 200-1.
41. Alcid, DV. *Neisseria sicca* pneumonia. Chest 1980; 77: 123-4.
42. Berger SA, Gorea A, Peyser MR, Edberg SC. Bartholin's gland abscess caused by *Neisseria sicca*. J Clin Microbiol 1988; 26: 1589.

Ester Vendrell^{1,2}
Josep A Capdevila^{1,2}
Pilar Barrufet¹
Lluís Force¹
Goretti Sauca³
Encarna Martínez¹
Elisabet Palomera⁴
Mateu Serra-Prat⁴
Jordi Cornudella⁵
Annabel Llopis⁶
M^aAsunción Robledo⁷
Crisóstomo Vázquez⁸

Mortality among methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriers in long-term care facilities

¹Department of Internal Medicine, Hospital de Mataró, Consorci Sanitari del Maresme. Mataró. Barcelona, Spain.
²Department of Medicine. Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra (Cerdanyola del Vallès). Barcelona, Spain.
³Department of Microbiology, Hospital de Mataró, Consorci Sanitari del Maresme. Mataró. Barcelona, Spain.
⁴Department of Epidemiology, Hospital de Mataró, Consorci Sanitari del Maresme. Mataró. Barcelona, Spain.
⁵Department of Geriatrics, El Casal de Curació. Vilassar de Mar. Barcelona, Spain.
⁶Department of Geriatrics, Antic Hospital de Sant Jaume, Consorci Sanitari del Maresme. Mataró. Barcelona, Spain.
⁷Department of Geriatrics, Centre Geriàtric Maresme. Mataró. Barcelona, Spain.
⁸Department of Geriatrics, Residència Geriàtrica l'Estada. Sant Andreu de Llavaneres. Barcelona, Spain.

ABSTRACT

Introduction. Little is known about the natural course of patients with chronic stable illnesses colonized with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The aim is to determine the impact of MRSA colonization in mortality among long-term health care facility (LTHCF) residents.

Method. A multicenter, prospective, observational study was designed. Residents in 4 LTHCFs were classified according to MRSA carriage status and followed for 12 months. Treatment consisted of 5 days of nasal mupirocin in MRSA carriers.

Results. Ninety-three MRSA-carriers among 413 residents were identified. Thirty-one MRSA-colonized patients died during the study period, 11 of whom from an infectious disease. Independent predictors of their higher mortality rates included heart failure, current neoplasm, MRSA carriage and COPD at 3 months and these same factors plus stroke, Barthel index <40, pressure ulcers, and older age at 12 months. MRSA-persistence was 35% and 62.5% at 3 and 12 months, respectively.

Conclusions. MRSA colonization among frail LTHCFs residents is highly prevalent, and is associated with higher mortality. Despite treatment of MRSA carriers, many remained colonized. Factors that promote persistence of MRSA colonization, and the impact of their modification on mortality rates in these patients, need further investigation.

Key words: Mortality. Nursing homes. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*.

Mortalidad entre los portadores de *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina en centros sociosanitarios

RESUMEN

Introducción. La evolución natural de los pacientes con enfermedades crónicas y estables que son colonizados con *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (SARM) es poco conocida. El objetivo es determinar el impacto de la colonización por SARM en la mortalidad entre los residentes de centros sociosanitarios (CSS).

Métodos. Se diseñó un estudio multicéntrico, prospectivo y observacional. Los residentes de 4 CSS tras ser clasificados según su estado de portador de SARM, fueron sometidos a seguimiento durante 12 meses. Los portadores fueron tratados 5 días con mupirocina nasal.

Resultados. Entre 413 residentes se identificaron 93 portadores. Durante el período de estudio murieron 31 colonizados, 11 de los cuales por infección. Predictores independientes de mortalidad incluyeron, a los 3 meses: insuficiencia cardíaca, neoplasia activa, colonización por SARM y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; a los 12 meses incluyeron estos mismos factores y además: ictus, índice de Barthel <40, úlceras de presión, y edad más avanzada. La persistencia de SARM fue 35% y 62,5% a los 3 y 12 meses, respectivamente.

Conclusiones. La colonización por SARM entre los pacientes frágiles ingresados en CSS tiene una elevada prevalencia, y se ha asociado a mayor mortalidad. A pesar del tratamiento de los portadores, muchos permanecieron colonizados. Es necesario investigar mejor los factores que favorecen la persistencia de colonización por SARM, y el impacto de su modificación sobre las tasas de mortalidad en estos pacientes.

Palabras clave: Mortalidad. Centros sociosanitarios. *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina.

Correspondence:
Josep Anton Capdevila Morell
Internal Medicine Unit. Hospital de Mataró.
Ctra. Cirera, s/n. Mataró, 08304 Barcelona, Spain.
Phone: +34 937417700 / +34 625166318.
Fax: +34 937417702.
E-mail: jcapdevila@cscdm.cat.

INTRODUCTION

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection has been shown to increase morbimortality and health-care costs as compared to other infections¹. Data to support the previous statement come primarily from studies evaluating acute patients admitted to high-technology hospitals². MRSA infection itself, however, has not been undoubtedly linked to the excess mortality across all studies³, as empirical treatments are frequently ineffective for this condition^{2,4,5} and MRSA carriers exhibit frequent and severe comorbidities.

Current knowledge about the MRSA carrier state, irrespective of the patients' infection status, is scarce. Studying the evolution of MRSA-colonized patients in long-term care facilities may provide an accurate view of the significance of MRSA colonization, and help disentangle it from other short-term life expectancy predictors in acute patients. With this aim, we analyzed the 3-month and 1-year mortality in a cohort of MRSA colonized patients admitted to various long-term care facilities in a health region with a single acute-care reference hospital.

METHODS

During the month of December 2003 an epidemiological survey was carried out and samples for microbiological analysis were collected from all the patients admitted to any of 4 long-term health care facilities (LTHCF) in a single health region. MRSA carriers were evaluated clinically and microbiologically every 3 months for a year or to the time of their decease, whichever occurred first. These 4 LTHCF provide health care to a population of about 220,000 and share a common acute-care reference hospital. Each one of the centres (henceforth termed A, B, C, and D) provides a combination of long-term acute, rehabilitation and palliative care.

This work was approved by the reference Ethical Committee and every patient (or a qualified proxy) gave his or her consent. MRSA detection was performed on swabs taken from the nasal fossae and any cutaneous ulcer participants were found to have. Samples were collected by designated members of the nursing staff in each centre using a swab that was subsequently introduced in a pipe filled with transport medium and sent to the microbiology laboratory of the reference hospital. All samples were cultured on standard media, including the Columbia blood-agar and the antibiotic supplemented Columbia blood-agar (Columbia CNA agar) bases. *Staphylococcus aureus* was identified by the results of a gram stain and the catalase and coagulase tests; a disc diffusion antibiogram was performed and interpreted according to NCCLS standards⁶.

The date of decease of each participant was recorded. The cause of death was classified as "infectious" if it had been suspected as such (regardless of whether it had been microbiologically proven or not), or as "not infectious" (any other or unknown causes).

The epidemiological survey to evaluate risk and persis-

tence factors for MRSA colonization was performed through personal interview and/or review of the medical records of each inpatient, and included: personal information, past medical history, clinical assessment of cognitive function, performance status and degree of dependence (expressed according to the Barthel index (BI)), nutritional assessment with the short form of the Mini Nutritional Assessment (SF-MNA), antibiotic or steroid treatment in the preceding 6 or chemotherapy in the previous 3 months, neutrophil count <500 cells/mL, skin lesions, any invasive procedure (including indwelling urinary, enteral or vascular catheters, parenteral nutrition, non-invasive mechanical ventilation, with mention of their date if insertion/initiation and duration) and surgical drainage procedures. Basic laboratory results for each patient were also recorded.

A 2% mupirocin in a paraffin base was applied to the inner surface of each nostril three times daily for 5 days in every patient recognized as being MRSA-colonized. Eradication of colonization in other locations was not attempted, although all skin ulcers were kept thoroughly cleansed.

A post-hoc analysis of mortality associated to the MRSA-carrier state in patients who resided in a LTHCF at the beginning of the study, compared survivors to those who died during the follow-up period. Statistical analysis consisted in the comparison of survival curves of MRSA-carriers and non-carriers, and the assessment of risk factors for mortality at 3 and 12 months using contingency tables and, the t-Student or U-Mann-Whitney tests. Finally the analysis of independent predictors of mortality was performed entering those factors associated with mortality in a bivariate analysis, in a multivariate logistic regression model.

RESULTS

A total of 413 patients admitted in one of the LTHCFs at the beginning of the study period were included in the analysis. Ninety-three (22.5%) were identified as MRSA-carriers. The microorganism was isolated from the nares in 57 patients (61.3% of carriers), from the nares and skin ulcers in 14 (15.1%) and from only ulcers in 22 (23.7%). The distribution of MRSA-carriers between the various centres was 35.5% (centre A), 25.8% (B), 21.5% (C) and 17.2% (D), which corresponded to a prevalence of MRSA carriage of 15.8%, 20.5%, 24.4% and 29.2%, respectively ($p=0.116$).

The epidemiological and clinical features of MRSA-carriers and non-colonized patients are shown in table 1. Our study disclosed statistically significant differences regarding variables that have been classically associated to the MRSA carrier state, such as skin lesions, decubitus ulcers, urinary catheters and a greater degree of functional dependence (BI lower than 40).

The overall mortality rate at 12 months was 22% (90 patients). MRSA-carriers had a greater mortality rate, both at 3 months (OR 3.18; 95% CI 1.54-6.60) and at 12 months (OR 2.21; 95% CI 1.32-3.70), as shown in the figure 1 (long rank test: $p<.001$) tables 1 and 2.

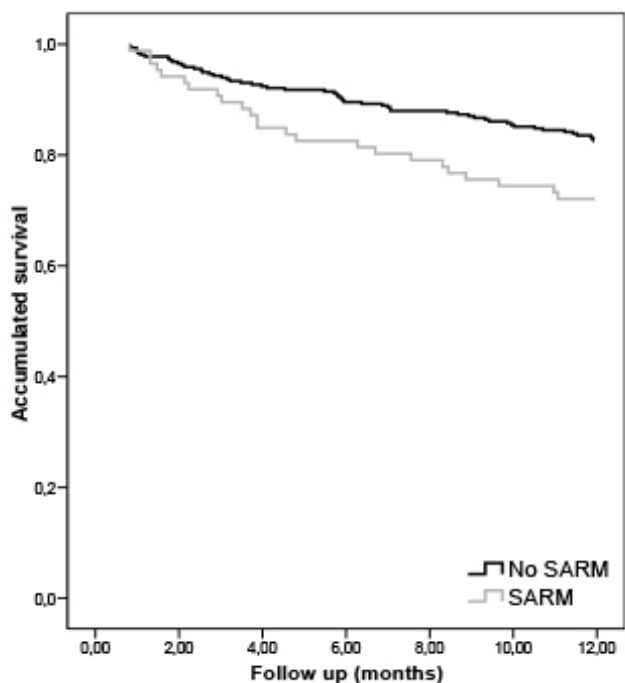


Figure 1 | Survival curves. MRSA(+) vs. MRSA(-) in residents of Long-term Health Care Facilities. Long rank test: $p < 0.001$, both at 3 and 12 months.

Patients MRSA+ in grey versus patients MRSA- in black

Thirty-five percent of all patients who had been found to be MRSA-carriers at the beginning of the study period were found to be colonized at 3 months; at 6 and 9 months the proportion of patients who were colonized rose to 47% and 46%, respectively. Only 56 patients could be evaluated with nares and ulcer samples at the end of the 12 month follow-up, and at that time point, 35 patients (62.5%) were MRSA-carriers.

Table 2 displays the factors that were found to be associated to mortality among patients admitted to LTHCFs at 3 and 12 months. Four individuals were known to have died during the study period, but they had to be excluded from analysis at 3 months, because their date of decease was not known. The independent predictors of mortality that were identified by the multivariate analysis included heart failure (OR 4.6; 95% CI 1.7-12.4), current neoplasm (OR 4.56; 95% CI 1.6-13.2), MRSA carriage (OR 3.41; 95% CI 1.3-8.9) and COPD (OR 2.79; 95% CI 1.1-7.3) at 3 months, and current neoplasm (OR 19.48; 95% CI 7.1-53.1), heart failure (OR 3.01; 95% CI 1.4-6.3), MRSA carriage (OR 2.91; 95% CI 1.2-6.8), COPD (OR 2.13; 95% CI 1.0-4.6), stroke (OR 2.80; 95% CI 1.3-6.1), BI<40 (OR 3.38; 95% CI 1.6-7.2), pressure ulcers (OR 3.40; 95% CI 1.3-9.3), and older age (OR 1.39; 95% CI 1.0-1.1) at 12 months. Urinary catheters were associated with a lower mortality rate (OR 0.14; 95% CI 0.0-0.7). The model did not include steroid treatment, as its association to COPD could mask the results.

The cause of death of the 31 deceased MRSA-colonized patients was considered to be infection in 11 cases (4 with in-

fection of the skin ulcers, 6 with respiratory infection, and 1 with urinary tract infection) and not infectious in the remaining 20 (6 progression of the current neoplasm, 4 heart failure, 2 rectorrhagia, 2 ischemic heart disease, 1 hypercapnic respiratory failure, 1 deep venous thrombosis, 1 peripheral arterial ischemia, and 3 unknown).

DISCUSSION

This observational study confirms there is a high prevalence of MRSA colonization among patients with pluripathology who are admitted to LTHCFs for long time periods^{7,8} and this colonization has prognostic relevance. Several patient-related factors, such as the existence of vascular or pressure ulcers, and institution-related factors, such as infrastructure and organization charts, determine the observed rates of MRSA colonization in medical centers⁹⁻¹¹. These aspects have been previously evaluated in other studies covering risk and persistence factors for MRSA in different groups^{12,13}, Bloemendaal et al. studied the transmission and colonization persistence of *S. aureus* comparing methicillin-resistant to methicillin-sensible strains, and detected a more stable nasal colonization by MRSA¹⁴. Several authors emphasize the importance of mathematical models to investigate transmission dynamics in nursing homes where MRSA is highly endemic¹³. Further studies are needed involving nursing home residents and health care workers. The collaboration between different health institutions is also important in MRSA spread control^{13,15}.

The most significant finding in this study is the high mortality rate observed both in the short and intermediate terms among MRSA carriers as compared to non-carriers. The correlation observed with MRSA carriers and mortality is independently of other known factors associated with mortality in these colonized and institutionalized patients. Moreover, it should be stressed that this applies mainly to chronically ill patients who are merely colonized, and not to acutely ill patients with active infections that adversely impact their short term prognosis. One out of 6 patients died within 3 months, and 1 in 3 did within 12 months of detecting the MRSA colonization, rates which are three times higher than those of non-colonized patients in our sample. Other analyzed variables, such as various comorbidities and functional status, are also predictors of death among institutionalized patients. Nevertheless, among MRSA carriers, the relative risk of dying within 3 or 12 months was unchanged after adjusting for these co-variables using the Mantel-Haenszel stratified analysis.

A higher mortality rate among MRSA colonized patients in LTHCFs has been reported^{7,9,10,16,17}, but a comprehensive explanation for this association has not been provided. In contrast, some authors found no relationship between MRSA colonization and mortality¹⁸⁻²⁰. This lack of association has been accounted for by different factors. On one hand, the elderly living in a nursing home have prominent comorbidities and may require frequent admissions to acute care hospitals. Both the need for readmission to acute care hospitals and the progression of functional

Table 1 Differential clinical and epidemiological characteristics of patients.

	MRSA (N=93)	Non MRSA (N=320)	P
Female, n (%)	57 (61.3)	205 (64.1)	0.625
Age (years)	76.7±11.5	76.6±13.3	0.738
Diabetes mellitus, n (%)	27 (29.0)	75 (23.4)	0.326
Heart failure, n (%)	28 (30.1)	80 (25.0)	0.366
Stroke, n (%)	21 (22.6)	82 (25.6)	0.474
COPD, n (%)	22 (23.7)	54 (16.9)	0.167
Arterial insufficiency, n (%)	16 (17.2)	40 (12.5)	0.285
Venous insufficiency, n (%)	17 (18.3)	74 (23.1)	0.279
Current neoplasm, n (%)	11 (11.8)	35 (10.9)	0.834
Liver cirrhosis, n (%)	4 (4.3)	10 (3.1)	0.533
Chronic renal failure, n (%)	1 (1.1)	11 (3.4)	0.310
Other comorbidities, n (%)	42 (45.2)	103 (32.2)	0.042
Cognitive impairment, n (%)	51 (54.8)	162 (50.6)	0.632
BI<40, n (%)	54 (58.1)	146 (45.6)	0.031
Possible malnutrition (SF-MNA<11) n (%)	56 (60.2)	231 (72.2)	0.537
Albumin g/L	38.0±43.3	32.5±5.4	0.204
Neutrophil count (cells/mL)	7,953.2±3,197.3	7,403.3±3,069.5	0.097
Neutrophil count <=500 cells/mL, n (%)	35 (37.6)	117 (36.6)	0.833
Total leukocyte count	7,953.2±3,197.3	7,403.3±3,069.5	0.097
Lymphocyte count	2,045.0±2,197.1	2,016.5±1,713.1	0.442
Skin lesions (other than ulcers), n (%)	16 (17.2)	18 (5.6)	<0.001
Ulcers, n (%)	30 (32.3)	32 (10.0)	<0.001
Urinary catheter, n (%)	16 (17.2)	9 (2.8)	<0.001
Corticosteroid therapy (latest 6 months) n (%)	13 (14.0)	42 (13.1)	0.836
Chemotherapy (latest 3 months), n (%)	1 (1.1)	3 (0.9)	1
Mortality at 3 months, n (%)	15 (16.1)	18 (5.6)	0.001
Mortality at 12 months, n (%)	31 (33.3)	59 (18.4)	0.002

COPD Chronic Obstructive Pulmonary Disease. BI Barthel index^a. SF-MNA short form of the mini nutritional assessment scale^b. g/L grams per liter. cells/mL cell count per milliliter.

^aBI score interpretation: <20 total dependence, 20-60 severe dependence, 65-90 moderate dependence, 95 slight dependence, 100 independence.

^bSF-MNA score interpretation: <11 at risk for undernutrition, > or = 11: acceptable nutritional status.

status index scores have been studied, but no relationship to the mortality rates has been disclosed¹⁶. On the other hand, they have more antibiotic pressure and frequent contacts with other residents or caregivers among which MRSA prevalence is high. Robust conclusions regarding the role of MRSA colonization among nursing home residents, however, are not available as studies in this field are scarce and have conflicting results^{12,19,21}.

The evaluation of the causes of death that we retrospectively performed suggests that most patients did not die from

MRSA infection. Out of the 31 deceased patients, there was a suspicion of active infection in only 11 (35.5%). The microbiological etiology in these cases, however, could not be determined, as they died in a LTHCF where cultures are not readily performed²². However we cannot exclude MRSA as a direct cause of death in them, mainly from skin infections.

Several authors and consensus statements¹¹ advocate for a proactive detection of MRSA in LTHCFs, and the implementation of isolation procedures in an attempt to reduce the colonization and infection rates. Other documents^{15,23} preconize more general measures in LTHCFs, because, despite high prevalence of MRSA colonization, the risk of developing an active infection is considered to be low^{18,24}. Our observational study does not provide additional data to solve this dilemma, as only the higher mortality among MRSA carriers can be clearly deduced from our results.

A limitation in our study is the fact that MRSA was not systematically investigated in the perineum and the pharynx, and this may have underestimated the proportion of colonized residents. Moreover, the possibility of de novo colonization of patients found to be not colonized at the beginning of the study period was also not evaluated.

Another potential limitation of our study design is the fact that no information on the time span from colonization to decease was available, because the initial evaluation was a prevalence survey (all participants were evaluated simultaneously) and not performed at the time of their admission to the LTHCF. This design allows for the detection of increased mortality rates, but not for variations in this measure with regard to the duration of the colonization.

It would be interesting to identify which factors promote persistence of MRSA colonization, and attempt to modify them, if possible, to determine whether this approach could modify mortality in this group of patients. Most MRSA positive patients in our study remained colonized during the follow-up period, despite the fact that all of them had been treated with topical mupirocin. Once colonized, nursing home residents usually remain colonized with the same MRSA strain, at least for 1 year^{25,26}. In this study, colonized individuals were evaluated every 3 months for a year or until their death, and of the 56 MRSA-positive patients who were alive and could be contacted for control at 12 months, 35 (62.5%) remained positive.

It is well known that mupirocin has a low success rate in eradicating MRSA colonization, Strausbaugh et al. found that

Table 2 Baseline factors associated with mortality at 3 and 12 months in a cohort of residents of chronic care facilities.

Baseline factor		Alive	Dead	p	OR	95%CI
At 3 months		376	33			
N=409	Heart failure, n (%)	91 (24.2)	15 (45.5)	0.005	2.81	1.34-5.91
4 missing	COPD, n (%)	61 (16.2)	15 (45.5)	<0.001	4.40	2.08-2.28
	Current neoplasm, n (%)	35 (9.3)	11 (33.3)	<0.001	4.70	2.11-10.5
	BI<40, n (%)	174 (46.3)	22 (66.7)	0.027	2.29	1.08-4.85
	Ulcers, n (%)	52 (13.8)	10 (30.3)	0.013	2.66	1.20-5.91
	Urinary catheter, n (%)	20 (5.3)	5 (15.2)	0.043	3.13	1.09-8.98
	MRSA carriage, n (%)	78 (20.7)	15 (45.5)	0.001	3.18	1.54-6.60
	Albumin (g/L)	34.4±23.1	28.1±4.3	<0.001	-	-
	Lymphocyte count (cells/mL)	2,077±1,833	1,024±371	0.041	-	-
At 12 months		323	90			
N=413	Heart failure, n (%)	72 (22.0)	36 (38.9)	0.001	2.30	1.39-3.79
	Stroke, n (%)	74 (22.9)	29 (32.2)	0.077	1.59	0.95-2.66
	COPD, n (%)	47 (14.6)	29 (32.2)	<0.001	2.73	1.59-4.68
	Arterial insufficiency, n (%)	37 (11.5)	19 (21.1)	0.020	2.05	1.11-3.78
	Current neoplasm, n (%)	19 (5.9)	27 (30.0)	<0.001	6.59	3.45-12.6
	Possible malnutrition (SF-MNA≤11), n (%)	223 (69.0)	64 (71.1)	0.012	4.21	1.27-14.0
	BI<40, n (%)	140 (42.7)	60 (64.4)	<0.001	2.68	1.63-4.39
	Ulcers, n (%)	36 (11.1)	26 (28.9)	<0.001	3.17	1.79-5.62
	Urinary catheter, n (%)	15 (4.6)	10 (11.1)	0.026	2.53	1.09-5.83
	MRSA carriage, n (%)	62 (19.2)	31 (34.4)	0.002	2.21	1.32-3.70
	Age (years)	75.8±13.5	79.6±10.1	0.031	-	-
	Albumin (g/L)	32.8±5.2	37.1±43.5	0.006	-	-

COPD Chronic Obstructive Pulmonary Disease. BI Barthel index^a. SF-MNA short form of the mini nutritional assessment scale^b. g/L grams per liter. cells/mL cell count per milliliter. OR Odds Ratio. CI Confidence Interval.

^aBI score interpretation: <20 total dependence, 20-60 severe dependence, 65-90 moderate dependence, 95 slight dependence, 100 independence.

^bSF-MNA score interpretation: <11 at risk for undernutrition, > or = 11: acceptable nutritional status.

Bivariate analysis, in a multivariate logistic regression model.

MRSA colonization could be eradicated in 43% of nursing home residents, but persistence of eradication was assessed for only one month²⁷. In a similar way Mody et al. observed MRSA decolonization for up to 6 months, although this did not reach statistical significance and 14 patients in their sample relapsed and became chronic MRSA carriers²⁸. In this setting, attempts to decolonize affected individuals may need to be aimed at the detection and control of any modifiable persistence factors for this condition.

Many individuals carry *S. aureus* in their nares for long periods of time and never develop infections. However, a high risk of infection exists when these patients undergo invasive procedures, after an aspiration event, a breach in the skin or

a bladder obstruction. Drinka et al, observed 1.6 episodes of infection per 100 residents per year in a veterans home¹². This low figure may well be an underestimation, as it relies on a retrospective observation and cultures were not routinely performed²⁹. Other authors have also reported low MRSA infection rates in LTHCF³⁰, although their data should be cautiously interpreted because asymptomatic carrier rates likely vary between different institutions.

In summary, nasal carriage of MRSA in LTHCF was independently associated with higher mortality rates. This observation is in accordance with previously published data⁹. Further studies are needed to determine whether interventions on modifiable persistence factors for MRSA could counterbalance the increased mortality rate in colonized patients over the short and intermediate terms.

ACKNOWLEDGMENTS

David Salat i Foix. Authors' assistance in English version.

Department of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, Spain. No source of financial support

CONFLICT OF INTEREST

There is no conflict of interest in this study, including financial, personal or any other potential conflict.

REFERENCES

1. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. Clin Infect Dis 2003;36:53-9.
2. Blot SI, Vandewoude KH, Hoste EA, Colardyn FA. Outcome and Attributable Mortality in Critically Ill Patients With Bacteremia Involving Methicillin-Susceptible and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Arch Intern Med 2002;162:2229-35.
3. Melzer M, Eykyn SJ, Gransden WR, Chinn S. Is Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* More Virulent than Methicillin-Susceptible *S. aureus*? Clin Infect Dis 2003;37:1453-60.
4. Schramm GE, Johnson JA, Doherty JA, Micek ST, Kollef MH. Methi-

- collin-resistant *Staphylococcus aureus* sterile-site infection: The importance of appropriate initial antimicrobial treatment. *Crit Care Med* 2006;34:2069-74.
5. Soriano A, Marco F, Martínez JA, Pisos E, Almela M, Dimova VP, et al. Influence of vancomycin minimum inhibitory concentration on the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Clin Infect Dis* 2008;46:193-200.
 6. Krisher K, Callihan DR, Jones RN, Luper DC, Miller JM, Sharp SE, et al. Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard—Third Edition. NCCLS document M22-A3 (2004). ISBN 1-56238-536-4.
 7. Mulhausen PL, Harrell LJ, Weinberger M, Kochersberger GG, Feussner JR. Contrasting methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in Veterans Affairs and community nursing homes. *Am J Med* 1996;100:24-31.
 8. Manzur A, Dominguez MA, Ruiz de Gopegui E, Mariscal D, Gavalda L, Segura F, et al. Natural history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonisation among residents in community long term care facilities in Spain. *J Hosp Infect* 2010;76:215-9.
 9. Giraud K, Chatap G, Bastuji-Garin S, Vincent JP. Impact of nasal colonization by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among geriatric intermediate care facility patients. *Presse Med* 2004;33:1497-501.
 10. Bradley SF. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Nursing Homes. *Drugs Aging* 1997;10:185-98.
 11. Coia JE, Duckworth GJ, Edwards DJ, Farrington M, Fry C, Humphreys H, et al. Guidelines for the control and prevention of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthcare facilities. *J Hosp Infect* 2006;63 (Suppl 1):1-44.
 12. Drinka P, Faulks JT, Gauerke C, Goodman B, Stemper M, Reed K. Adverse Events Associated With Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a nursing home. *Arch Intern Med* 2001;161:2371-7.
 13. Chamchod F, Ruan S. Modeling the spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in nursing homes for elderly. *PLoS ONE* 2012; 7:e29757.
 14. Bloemendaal AL, Vriens MR, Jansen WT, Borel Rinkes IH, Verhoef J, Fluit AC. Colonization and transmission of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a murine nasal colonization model. *J Med Microbiol* 2011;60:812-6.
 15. Kern WV, Dettenkofer M. Nosocomial infections: MRSA und CDAD as a challenge. *Internist (Berl)* 2009;50:691-703.
 16. Niclaes L, Buntinx F, Banuro F, Lesaffre E, Heyrman J. Consequences of MRSA carriage in nursing home residents. *Epidemiol Infect* 1999;122:235-9.
 17. Datta R, Huang SS. Risk of infection and death due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in long-term carriers. *Clin Infect Dis* 2008;47:176-81.
 18. Manzur A, De Gopegui ER, Dominguez M, Mariscal D, Gavalda L, Perez JL, et al. Clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in residents in community long-term care facilities in Spain. *Epidemiol Infect* 2012;140:400-6.
 19. Horner C, Wilcox M, Barr B, Hall D, Hodgson G, Parnell P, et al. The longitudinal prevalence of MRSA in care home residents and the effectiveness of improving infection prevention knowledge and practice on colonisation using a stepped wedge study design. *BMJ Open* 2012; 2:e000423.
 20. Whitby M, McLaws ML, Berry G. Risk of death from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a meta-analysis. *Med J Aust* 2001;175:264-7.
 21. Hughes C, Smith M, Tunney M, Bradley MC. Infection control strategies for preventing the transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in nursing homes for older people. *Cochrane Database Syst Rev* 2011:CD006354.
 22. High KP, Bradley SF, Gravenstein S, Mehr DR, Quagliarello VJ, Richards C, et al. Clinical practice guideline for the evaluation of fever and infection in older adult residents of long-term care facilities: 2008 update by the Infectious Diseases Society of America. *J Am Geriatr Soc* 2009;57:375-94.
 23. Albero I, Barrio JL, Domínguez A, Llorens M, Prats G, Romans J, et al. Precaucions i mesures d'aïllament per evitar la transmissió de les infeccions als centres sanitaris. Direcció General de Salut Pública. Departament de Sanitat i Seguretat Social. Catalunya. 2000. ISBN 84-393-4994-7.
 24. Pujol M. Importance of geriatric centres or long-stay health institutions due to the endemic persistence of MRSA. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2011;29:403-4.
 25. Bradley SF, Terpenning MS, Ramsey MA, Zarins LT, Jorgensen KA, Sottile WS, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: colonization and infection in a long-term care facility. *Ann Intern Med* 1991;115:417-22.
 26. Robicsek A, Beaumont JL, Peterson LR. Duration of colonization with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 2009;48:910-3.
 27. Strausbaugh LJ, Jacobson C, Sewell DL, Potter S, Ward TT. Antimicrobial therapy for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in residents and staff of a Veterans Affairs nursing home care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1992;13:151-9.
 28. Mody L, Kauffman CA, McNeil SA, Galecki AT, Bradley SF. Mupirocin-based decolonization of *Staphylococcus aureus* carriers in residents of 2 long-term care facilities: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Infect Dis* 2003;37:1467-74.
 29. Safdar N, Bradley EA. The risk of infection after nasal colonization with *Staphylococcus aureus*. *Am J Med.* 2008;121:310-5.
 30. Feingold K, Siegler EL, Wu B, Stevenson C, Kirk K, Jedrzejewski MK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a new nursing home. *Aging (Milano)* 1994;6:368-71.

Gertrudis Horna¹
Lizeth Astocondor¹
Jan Jacobs²
Coralith García¹

Evaluación de métodos fenotípicos para la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina

¹Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima Perú.

²Instituto de Medicina Tropical Príncipe Leopoldo II, Amberes, Bélgica

RESUMEN

Introducción. Cefoxitina es un potente inductor del gen *mecA*. Actualmente es recomendado como método de detección presuntiva para la identificación de aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). El objetivo del estudio fue comparar la sensibilidad y especificidad de la difusión en disco de cefoxitina (30µg) con la prueba de crecimiento en agar suplementado con oxacilina frente a la detección del gen *mecA* por PCR.

Material y métodos. Trescientos treinta y una cepas de *S. aureus* aisladas de hemocultivos de pacientes de hospitales de Lima fueron utilizadas en el estudio. Se realizaron las siguientes pruebas a todas las cepas: crecimiento en agar suplementado con 4% de NaCl y 6 mg/L de oxacilina, difusión de cefoxitina (30 µg) y la PCR para amplificar el gen *mecA*.

Resultados. De los 331 aislamientos de *S. aureus* analizados, en 165 se detectó la presencia del gen *mecA*, lo que hace una frecuencia de detección de SARM de 50%. Al evaluar la prueba de difusión en disco de cefoxitina se observó una sensibilidad y especificidad, 96,3% y 90,9 %, respectivamente.

Conclusión. La prueba de difusión en disco de cefoxitina correlacionó con la detección del gen *mecA* por PCR. Por lo tanto, la prueba puede ser una alternativa a la PCR para la detección de SARM en aquellos lugares con limitados recursos.

Palabras clave: gen *mecA*, *Staphylococcus aureus* resistencia a meticilina, heteroresistente, cefoxitina

Phenotypic methods for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Background. Cefoxitin is a potent inducer of the *mecA* gene. It is currently as a screening recommended method for presumptive identification of isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The aim of the study was to compare the sensitivity and specificity of the cefoxitin disc diffusion (30µg) to oxacillin agar screening from detection of the *mecA* gene by PCR.

Methods. Three hundred thirty-one strains of *S. aureus* isolated from blood cultures of patients from hospitals in Lima were used in the study. The following tests were performed: oxacillin screening agar (plates were inoculated with 4% NaCl and 6 mg/L of oxacillin), cefoxitin disc diffusion test (30 µg) and PCR to amplify the *mecA* gene.

Results. The *mecA* gene was detected in 165 out of 331 *S. aureus* isolates. Thus, the frequency of detection of MRSA was 50%. The evaluation of the cefoxitin disc diffusion test showed a 96.3% and 90.9% of sensitivity and specificity, respectively.

Conclusion. Cefoxitin disc diffusion test correlated well with detection of the *mecA* gene by PCR. Therefore, this test can be an alternative to PCR for detection of MRSA in limited resources settings.

Key Words: *mecA* gene, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, heteroresistance, cefoxitin.

INTRODUCCIÓN

La infección por *Staphylococcus aureus* es un problema de salud pública. *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) es un patógeno ampliamente diseminado en el ambiente hospitalario y más recientemente en la comunidad. La resistencia a meticilina está producida por la adquisición del gen *mecA* que se encuentra localizado en el cassette cromosómico estafilocócico *mec* (*SCC-mec* por sus siglas en inglés), el cual permite la codificación

Correspondencia:
Gertrudis Horna
Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima Perú. Av.Honorio Delgado # 430 - Urb Ingenieria - SMP - Lima- Perú. Teléfono: 00511482 39 10 - anexo 20.
E-mail: sara.horna@upch.pe

de la proteína de unión a penicilina 2a (PBP2a)¹. Otros factores además del gen *mecA* están involucrados en modular la expresión de la resistencia a meticilina (como los genes *fem* y *aux*). Esta variación en la expresión del gen *mecA* explica la existencia de poblaciones homogéneas y heterogéneas del SARM. Las cepas de SARM hospitalarias frecuentemente presentan elevado nivel de resistencia a oxacilina y coresistencia a numerosos antibióticos, y son rápidamente detectados por métodos estandarizados de sensibilidad antimicrobiana. Por el contrario, las infecciones causadas por SARM adquiridos en la comunidad frecuentemente presentan un variable grado de resistencia a oxacilina, dependiendo de la expresión del gen *mecA*, y por tanto son más difíciles de detectar por los métodos de sensibilidad². Diferentes métodos fenotípicos están disponibles para detectar la resistencia a meticilina, crecimiento en agar suplementado con oxacilina, la difusión en disco de cefoxitina, y el test de aglutinación en látex para la detección de la PBP2a. Sin embargo, el método considerado como estándar es la detección molecular del gen *mecA* a través de técnicas de PCR³.

En este estudio, nosotros comparamos la sensibilidad y especificidad de tres métodos sugeridos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)⁴ para la detección de la resistencia a oxacilina en *S. aureus* (i) crecimiento en agar suplementado con oxacilina, (ii) el disco de cefoxitina, el cual se emplea como un sustituto de la oxacilina dado que el CLSI 2014 ha mencionado que la prueba de disco de oxacilina no es fiable (iii) determinación del gen *mecA*.

MATERIAL Y METODOS

Recolección de muestras. Un total de 331 aislamientos de *S. aureus* procedentes de hemocultivos de nueve hospitales de la ciudad de Lima fueron usados en este estudio. Los aislamientos fueron identificados como *S. aureus* usando las pruebas estándar como crecimiento en agar manitol salado, catalasa, coagulasa en lámina y tubo y tinción de Gram. La cepa de *S. aureus* ATCC 25923 y la cepa de *S. aureus* resistente a meticilina ATCC 43300 fueron empleadas para realizar el control de calidad en todos los ensayos de este estudio.

Crecimiento en agar suplementado con oxacilina. Se prepararon placas de agar Mueller Hinton con 4 % de cloruro de sodio y 6 mg/L de oxacilina. Las placas fueron inoculadas con 1 µL de una suspensión semejante a la escala 0,5 McFarland, la suspensión fue realizada a partir de un inóculo de 24 horas de crecimiento en placas de Trypticase Soja Agar. Las placas fueron incubadas a una temperatura de 33°C a 35°C y observadas con luz transmitida para visualizar el crecimiento. Cualquier crecimiento a las 24 horas fue considerado como resistente a oxacilina.

Prueba de difusión en disco de cefoxitina. Se emplearon discos de cefoxitina

(30 µg). Una suspensión semejante a la escala 0,5 McFarland fue realizada a partir de un inóculo de 24 horas de crecimiento y fue sembrada por diseminación en una placa de agar Mueller Hinton. Las placas fueron incubadas a 37°C por 18 horas. Un aislamiento fue considerado resistente a meticilina si presentaba un halo de inhibición de cefoxitina ≤ 21 mm.

Determinación del gen *mecA*. Se detectó el gen *mecA*, empleando la metodología de PCR real time propuesta por Donker et al⁵.

RESULTADOS

De los 331 aislamientos de *S. aureus* analizados, en 165 se detectó la presencia del gen *mecA*, lo que hace una frecuencia de detección de SARM de 50%. La mayor sensibilidad se obtuvo con la prueba de crecimiento en agar suplementado con oxacilina (98,1%), sin embargo fue la que tuvo mayor tasa de falsos positivos (11,5%). Al evaluar la prueba de difusión en disco de cefoxitina se observó una sensibilidad y especificidad de 96,3 y 90,9%, respectivamente (tabla 1).

DISCUSION

De nuestros hallazgos podemos observar que la resistencia a meticilina fue del 50%, resultados que son similares a los obtenidos en estudios previos realizados en nuestro medio en el que se ha informado un 58% de resistencia a nivel de tres hospitales de Lima⁶. A nivel de países de nuestra región, como Colombia, Ecuador y Venezuela se ha observado que la prevalencia de SARM fue del 45, 28 y 62%, respectivamente⁷.

Al evaluamos los tres métodos para detectar cepas de SARM observamos que de estos el crecimiento en agar suplementado con oxacilina tiene una sensibilidad del 98,1% a diferencia del método de difusión en disco de cefoxitina, sin embargo su especificidad fue del 88,5%. Estudios previos han demostrado que el crecimiento en agar suplementado con oxacilina puede identificar aquellos aislamientos que son *mecA* positivos, sin embargo, ocasionalmente, aquellas cepas heteroresistentes no son detectadas debido a la expresión disminuida de resistencia. Así, en diversos estudios en los cuales se han incluido cepas cuya resistencia es heterogénea, estas no han sido detectadas. Además, se ha observado que las diluciones en agar y el método difusión en disco de oxacilina podrían ser afectados por varios componentes del agar Mueller Hinton, así como de la temperatura y duración del tiempo de incubación^{8,9}.

Tabla 1			
Sensibilidad y especificidad de los métodos de diagnóstico para la detección de SARM			
Método diagnóstico	Detectadas como SARM	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Cefoxitina disco difusión (30 µg)	159	96,3	90,9
Crecimiento en agar suplementado con oxacilina (6 mg/L)	162	98,1	88,5
PCR para detección del gen <i>mecA</i>	165	100	100

Número total de aislamientos de *S. aureus*

Respecto a la sensibilidad y especificidad de la prueba de difusión en disco de cefoxitina observamos que fue del 96,3 y 90,9%, respectivamente. Anand et al. obtuvieron un 100% de sensibilidad y especificidad para esta prueba en 50 cepas analizadas mientras que los resultados del crecimiento en agar suplementado con oxacilina fueron igual de precisos. Asimismo se observó que los resultados de la difusión en disco de cefoxitina se encontraron en concordancia con la detección del gen *mecA* por PCR, tal como fue observado en nuestro estudio. Además, se ha observado que la prueba con el disco de cefoxitina es más fiable que el disco de oxacilina para la detección del SARM⁸.

Las cefamicinas (cefoxitina) son antibióticos β -lactámicos que tienen una elevada afinidad por la PBP4 de *S. aureus*; y experimentos previos han mostrado una relación entre PBP2, PBP4, y la resistencia a meticilina^{2,10}. Caulwelier et al. proponen que la cefoxitina sería un mejor inductor de la expresión del gen *mecA*, lo cual podría explicar por qué poblaciones heterogéneas del SARM que variablemente expresan el gen *mecA* se detectan mejor por difusión en disco con cefoxitina que con oxacilina, el cual es un inductor débil de la producción de la PBP2a².

En conclusión, la difusión en disco de cefoxitina es muy adecuada para la detección del SARM y la prueba puede ser una alternativa a la PCR para la detección del SARM en contextos de restricción de recursos. La prueba difusión en disco de oxacilina podría fallar para detectar poblaciones heterogéneas de SARM, un problema que es eliminado por el uso de cefoxitina, el cual como se ha mencionado es un buen inductor de la producción de la PBP2a en aislamientos de *S. aureus* que portan el gen *mecA*. Por otro lado en nuestro estudio a pesar de incluir un número importante de cepas de *S. aureus* desconocemos la diversidad genética de estas lo cual nos permitiría conocer la presencia de poblaciones heteroresistentes.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue auspiciado por el Proyecto Colaborativo Belga FA3-Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima Perú.

BIBLIOGRAFIA

1. Broekema NM, Van TT, Monson TA, Marshall SA, Warshauer DM. Comparison of cefoxitin and oxacillin disk diffusion methods for detection of *mecA*-mediated resistance in *Staphylococcus aureus* in a large-scale study. *J Clin Microbiol* 2009; 47:217-9.
2. Cauwelier B, Gordts B, Descheemaeker P, Van Landuyt H. Evaluation of a disk diffusion method with cefoxitin (30 microg) for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23:389-92.
3. de Sousa Júnior FC, Néri G da Silva G, Silva AK, de Araújo BP, de Paiva Dourado Guerra MJ, Britto Costa Fernandes MJ, et al. Evaluation of different methods for detecting methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* isolates in a university hospital located in the northeast of Brazil. *Braz J Microbiol* 2010;41:316-20.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute. M100-S24 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-fourth Informational Supplement. Wayne, Pa : CLSI, 2014.
5. Donker GA, Deurenberg RH, Driessen C, Sebastian S, Nys S, Stobberingh EE. The population structure of *Staphylococcus aureus* among general practice patients from The Netherlands. *Clin Microbiol Infect* 2009; 15:137-43.
6. Tamariz J, Agapito J, Horna G, Tapia E, Vicente W, Silva M, et al. *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima-Perú. *Rev Med Hered* 2010;21:4-10.
7. Mejia C, Zurita J, Guzmán-Blanco M; Grupo Latinoamericano de Trabajo sobre Resistencia en Gram-Positivos. Epidemiology and surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Latin America. *Rev Chil Infectol* 2010; 27(Suppl 2): 51-8.
8. Anand KB, Agrawal P, Kumar S, Kapila K. Comparison of cefoxitin disc diffusion test, oxacillin screen agar, and PCR for *mecA* gene for detection of MRSA. *Indian J Med Microbiol* 2009; 27:27-9.
9. Fernandes CJ, Fernandes LA, Collignon P; Australian Group on Antimicrobial Resistance. Cefoxitin resistance as a surrogate marker for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2005 ; 55:506-10.
10. Memmi G, Filipe SR, Pinho MG, Fu Z, Cheung A. *Staphylococcus aureus* PBP4 is essential for beta-lactam resistance in community-acquired methicillin-resistant strains. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52:3955-66.

Fabio Cafini¹
Fernando Gómez-Aguado²
María Teresa Corcuera³
Carmen Ramos¹
Pedro Bas¹
Luis Collado⁴
María Luisa Gómez-Lus¹
José Prieto¹

Genotypic and phenotypic diversity in *Enterococcus faecalis*: is agar invasion a pathogenicity score?

¹Medicine Department - Microbiology Area, School of Medicine, Complutense University, Madrid, Spain.

²Laboratory of Hematology, University Hospital La Paz, Madrid, Spain.

³Microbiology Department, University Hospital La Paz, Madrid, Spain.

⁴Medicine Department, School of Medicine, Complutense University, Madrid, Spain.

ABSTRACT

Objectives. The main objective of the present study is to analyze different genotypic and phenotypic traits related to virulence in *Enterococcus faecalis*, as well as evaluated the agar invasion phenotype in a collection of isolates with different clinical origins.

Material and methods. Seventy-nine *E. faecalis* isolates, with invasive and non-invasive clinical origins, have been used in this work. Presence of cytolysin activator (*cylA*), gelatinase (*gelE*), surface protein (*esp*), aggregation substance (*asa1*), endocarditis antigen (*efaA*), and collagen-binding protein (*ace*) have been analyzed by PCR. Phenotypic characterization included gelatinase activity, haemolysin production, biofilm formation and agar invasion.

Results. All the isolates tested harboured at least one of the virulence determinants. The 95.5% of isolates from haematologic samples were positive for agar invasion test, significantly higher than isolates from non-invasive diseases. A significant reduction in relative invasion area was observed in three selected agar-invasive strains after 15 serial passages.

Conclusions. It has been observed a significant high prevalence of agar-invasion positive isolates among strains belonged to haematological samples. Agar invasiveness is reduced after adaptation of clinical isolates to laboratory conditions, showing that agar invasion phenotype can be modulate by culture conditions as other virulence factors observed in different bacterial species.

Key words: *Enterococcus faecalis*, virulence, agar invasion.

Diversidad genotípica y fenotípica en *Enterococcus faecalis*: ¿Es la invasión en agar un marcador de patogenicidad?

RESUMEN

Objetivos. El principal objetivo de este trabajo es la caracterización de determinantes de virulencia genotípicos y fenotípicos relacionados con patogenicidad en *Enterococcus faecalis*, evaluando además el fenotipo de invasión en agar en una colección de aislados clínicos de diversa procedencia.

Material y métodos. Se han analizado 79 cepas de *E. faecalis* aisladas en infecciones invasivas y no invasivas. La detección de los principales determinantes asociados a la virulencia (*cylA*, *gelE*, *esp*, *asa1*, *efaA* y *ace*) se ha realizado mediante PCR. La caracterización fenotípica incluyó la detección de actividad gelatinasa, hemólisis, formación de biofilm y el test de invasión en agar.

Resultados. Todos los aislados presentaron, al menos, un determinante de virulencia. El 95,5% de las cepas provenientes de hemocultivos resultaron positivas para el test de invasión en agar, significativamente superior a lo observado en cepas de origen clínico no invasivo. En tres cepas seleccionadas, positivas para el test de invasión en agar, se observó una reducción significativa del área relativa de invasión tras 15 pases seriados.

Conclusiones. Se ha observado una alta prevalencia de cepas con alto grado de invasión en agar en los aislados hematológicos. Dicho grado de invasión disminuye significativamente al adaptar tres cepas al crecimiento en condiciones de laboratorio, sugiriendo una modulación en función de las condiciones de cultivo tal y como ocurre con otros determinantes asociados a virulencia en diferentes especies bacterianas.

Palabras clave: *Enterococcus faecalis*, virulencia, invasión en agar.

Correspondence:
Fabio Cafini
Medicine Department - Microbiology Area, School of Medicine, Complutense University,
Madrid, Spain.
Avda Complutense s/n
28040 Madrid (Spain)
E-mail:fcafini@med.ucm.es

INTRODUCTION

Enterococcus faecalis is an aerobic gram positive coccus commonly found in the normal human microflora and historically considered as non pathogenic. Since 1970s-1980s this bacterial specie has become one of the major nosocomial pathogens, and nowadays is the second pathogen associated with urine tract infection (UTI) and infected surgical wounds, and the third most common cause of bacteraemia in USA¹.

Even though it has been demonstrated that given the required conditions of intestinal overgrowth *E. faecalis* is able to establish a systemic infection in mice², some genetic factors have been associated with virulence in clinical strains. These genes encode secreted proteolytic enzymes (*gelE*, *cylA*) and adhesion proteins to eukaryotic cells and surfaces (*esp*, *asa1*, *efaA*, *ace*) which help the pathology process. These genes can be found in conjugative plasmids, such as pAD1³ or organized in complex pathogenic island⁴, allowing the horizontal intra- and inter-species transmission of these factors^{5,6}.

In addition to the presence of different genes, phenotypic characteristics, such as haemolysis, gelatinase activity or biofilm formation have been recognized as critical in the *in vivo* bacterial growth⁷. Recently, a new quantitative bacterial agar invasion test has been developed⁸. Agar invasion has been described as a strain-specific phenotypic character, and it has been hypothesized that the expression of this phenotype could be associated with an increased pathogenicity, as it occurs in yeasts^{8,9}. The main objective of this work is analyzing different genotypic and phenotypic traits related to virulence as well as evaluated the agar invasion phenotype in a collection of clinical isolates of *E. faecalis* with different clinical origins.

MATERIAL AND METHODS

Strains. Seventy-nine *E. faecalis* isolates from the strain collection of the Department of Microbiology, School of Medicine, Complutense University of Madrid have been analyzed. Samples were identified as EFx (where x takes values from x=1 to x=79). Strains were isolated from bacteraemia (EF1-EF22, n=22), urinary tract infections (EF23-EF48, n=26), exudates (EF49-EF63, n=15) and faeces (EF64-EF79, n=16). All assays were realized from stock bacterial suspensions in tryptone soy broth (TSB, Biomedics S.L., Madrid, Spain) adjusted to an OD₆₀₀ = 0.5.

Genotypic characterization. The presence of virulence-associated genes that encode for cytolysin activator (*cylA*), gelatinase (*gelE*), surface protein (*esp*), aggregation substance (*asa1*), endocarditis antigen (*efaA*), and collagen-binding protein (*ace*) were investigated by PCR using primers and conditions previously described (table 1).

Hemolysin production. Haemolytic activity was investigated plating bacterial suspensions onto agar Müeller-Hinton supplemented with 5% of human blood¹⁵. The presence of clear zone around the colonies (β haemolysis) was reported as a positive result.

Table 1 Primers used in this study for detection of virulence genes by PCR.

Gene	Primer	Sequence (5'-3')	Reference
<i>cylA</i>	CYT I	ACTCGGGGATTGATAGGC	10
	CYT IIb	GCTGCTAAAGCTGCGCTT	
<i>esp</i>	ESP 14F	AGATTCATCTTTGATTCTTGG	11
	ESP 12R	AATTGATTCTTTAGCATCTGG	
<i>asa1</i>	ASA 11	GCACGCTATTACGAACATATGA	12
	ASA 12	TAAGAAAAGAATCACCACGA	
<i>gelE</i>	GEL 11	TATGACAATGCTTTTTGGGAT	12
	GEL 12	AGATGCACCCGAAATAATATA	
<i>efaA</i>	TE5	GACAGACCCTCACGAATA	13
	TE6	AGTTCATCATGCTGCTGTAGTA	
<i>ace</i>	ACE1	AAAGTAGAATTAGATCCACAC	14
	ACE2	TCTATCACATTCGGTTGCG	

Gelatinase production. Gelatinase activity was detected using Gelatinase medium (BD Difco, Franklin Lakes, NJ). Nutrient gelatin tubes were inoculated with bacterial suspensions, incubated at 35°C for up to 15 days, and checked every day for gelatin liquefaction. A strain was considered positive when gelatinase medium remained liquid after exposure to 4°C for 30 minutes.

Biofilm production. Biofilm formation was performed on microtiter plates following the spectrophotometric methodology described by Stepanovic et al¹⁶. Briefly, six wells of polystyrene microtiter plates (Materlab S.L., Madrid, Spain) were inoculated with 200 μ l of each bacterial suspension and incubated at 35°C for 24 h. Formed biofilm was stained with crystal violet and then dye retained in the biofilm was solubilized with 200 μ l of 95% ethanol. Finally, OD₅₇₅ of each well was measured with a spectrophotometer (Cintra 10, GBC Scientific Equipment, Braeside, Australia). OD₅₇₅ average value of the six wells was used for comparisons. Sterile TSB was used as negative control. In order to classify strains into categories (non-producer, weak-producer, moderate-producer, high-producer) three cut-off values were established:

Cut-off 1 = OD₅₇₅ average value of negative control + 3 standard deviation (SD)

Cut-off 2 = Cut-off 1 x 2

Cut-off 3 = Cut-off 1 x 4

The algorithm used to classify strains based on their OD₅₇₅ average values is as follows:

Non-producer \leq cut-off 1 < weak-producer \leq cut-off 2 < moderate-producer \leq cut-off 3 < high producer

Agar invasion test. Agar invasiveness of different strains was analyzed using a recently described agar invasion test⁹. For this purpose stock bacterial suspensions were diluted 1/1000 in sterile TBS and 5 μ l of each dilution (1x10⁵ cfu/ml approx-

imately) were spotted onto the surface of standard Müller-Hinton medium in triplicate (three spots in a row). Plates were then incubated for 5 days at 35°C under aerobic conditions and constant humidity to allow colony/biofilm development. After incubation period, the area of each colony/biofilm was measured from images taken by stereo microscopy. Subsequently, plates were gently washed with sterile water to remove colonies/biofilms from the agar surface and flooded with 0.5% methylene blue for 5 minutes to allow dye penetration into the agar. Plates were then examined at 50x with a light microscope (Leica DM5000B) to detect bacterial growth within culture medium thickness. Digital images of bacterial invasions were analyzed with image analysis software (Leica QWin) and total area of each invasion was measured. Finally, relative invasion area (in percentage) of each invasion footprint respect to the total area occupied by colony/biofilm onto the agar surface was calculated.

All strains were classified into categories based on invasion relative area according to the following algorithm:

No-invasiveness \leq 0.2%
 < weak-invasiveness \leq 3.0% < moderate-invasiveness \leq 6.0% < high-invasiveness.

In order to determine if agar invasion phenotype could be modified by bacterial adaptation to laboratory conditions, three invasive strains (EF43, EF46 and EF75) were subjected to 15 serial passages on blood agar. Then the three derivative strains were subjected again to agar invasion test and the results compared with those of the parental strains.

RESULTS AND DISCUSSION

In this work different virulence factors have been analyzed in a large collection of *E. faecalis* strains isolated from invasive (hematologic isolates) and non-invasive diseases (urinary tract infections and exudates) and from faeces of healthy

Table 2 Incidence (number of strains and percentage) of genotypic virulence traits according to clinical origin of *E. faecalis* isolates.

Origin	N° strains	<i>gelE</i>	<i>asa1</i>	<i>cylA</i>	<i>esp</i>	<i>efaA</i>	<i>ace</i>
Bacteraemia	22	18 (81.8%)	16 (72.7%)	8 (36.4%)	7 (31.8%)	16 (72.7%)	13 (59.1%)
UTI	26	18 (69.2%)	20 (76.9%)	13 (50.0%)	20 (76.9%)	25 (96.2%)	12 (46.2%)
Exudates	15	13 (86.7%)	12 (80.0%)	5 (33.3%)	11 (73.3%)	15 (100%)	8 (53.3%)
Faeces	16	13 (81.3%)	14 (87.5%)	11 (68.8%)	7 (43.8%)	15 (93.8%)	12 (75.0%)
Total	79	62 (78.5%)	62 (78.5%)	37 (46.8%)	45 (57.0%)	71 (89.9%)	45 (57.0%)

Table 3 Incidence (number of strains and percentage) of phenotypic virulence determinants according to clinical origin of *E. faecalis* isolates.

Origin	N° strains	Haemolysis	Gelatinase	Biofilm	Agar invasion
Bacteraemia	22	4 (18.2%)	13 (59.1%)	18 (81.8%)	21 (95.5%)
UTI	26	11 (42.3%)	7 (26.9%)	24 (92.3%)	19 (73.1%)
Exudates	15	4 (26.7%)	10 (66.7%)	13 (86.7%)	11 (73.3%)
Faeces	16	9 (56.3%)	4 (25.0%)	15 (93.8%)	11 (68.8%)
Total	79	28 (35.4%)	34 (43.0%)	70 (88.6%)	62 (78.5%)

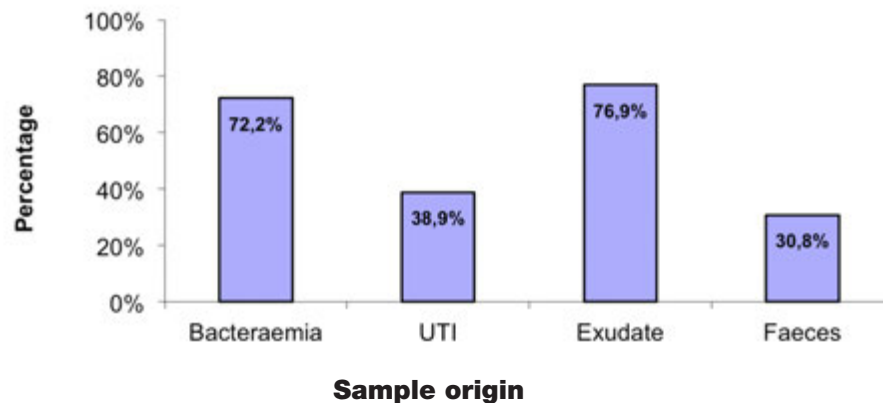


Figure 1 Frequency of *gelE* gene expression as percentage of strains carrying the gene which show *in vitro* gelatinase activity on the basis of its clinical origin.

individuals. We have studied the presence of different genes associated with virulent strains as well as phenotypic traits such as biofilm formation, gelatinase activity, haemolysis and agar invasion. All the isolates tested harboured at least one of the virulence determinants. Only two strains (EF16 and EF70) showed negative amplification of genetic determinants, as well as negative phenotypic detection of gelatinase activity or haemolysis. Nevertheless, both strains were positive for biofilm formation, and one of them (EF16) positive for agar invasion.

Gelatinase is an extracellular zinc endopeptidase encoded by *gelE* gene that hydrolyzes gelatin, collagen and small peptides¹⁷. This gene has been commonly found in clinical isolates of *E. faecalis*^{18,19}. In this work, *gelE* was detected in the

78.5 % of total strains, in accordance with previous studies^{18,19}. *GeE* prevalence was lower in strains from UTI (69.2%) than isolates from other sources (above 80%), although not significant differences were observed on the basis of the sample origin (table 2). A discrepancy between *geE* presence and its phenotypic expression was observed frequently¹⁴. In this study, only 54.8% of *geE*-positive strains showed *in vitro* gelatinase activity (table 3). *GeE* expression was significantly more frequent ($p=0.022$) among bacteraemia and exudate isolates (above 72%) when compared to UTI and faeces isolates (below 39%) (figure 1).

The enterococcal cytolysin (haemolysin) is a secreted virulence factor with bactericidal properties and beta-haemolytic effects in human erythrocytes, and its activity contributes to the disease severity²⁰. Haemolysin is a plasmid-borne operon composed by non regulatory genes (*cyL*), and the activator gene (*cyA*), which is essential for the haemolytic activity²¹. In this work *cyA* gene was detected in 46.8 % of strains tested (table 2). The prevalence was significantly higher in strains from faeces compared with exudates (68.7% vs 33.3%, $p=0.041$) or haematological samples (68.7% vs 36.4%, $p=0.044$), similar to the observed in other studies^{14,15}. However, the presence of *cyA* gene not perfectly correlated with haemolysis detection. Thus, only 28 out of 37 (75.7%) *cyA* positive strains caused beta-haemolysis (table 3). Interestingly, bacteraemia isolates showed both the lowest percentage of haemolytic strains (18.2%) as the lowest prevalence of haemolysis among *cyA* positive isolates (50%) (figure 2).

The enterococcal surface protein (*esp*) is a cell-wall-associated protein related to adhesion to eukaryotic cells, immune system evasion and biofilm formation. It has also been associated with colonization of urinary tract epithelium^{22,23}. In our work, this gene was found in 57.0% of total isolates (table 2), showing a significantly higher prevalence among strains from

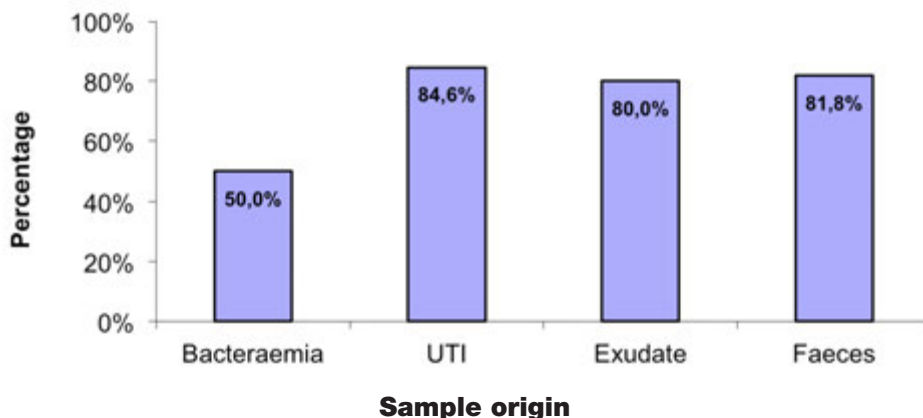


Figure 2 Percentage of strains carrying *cyA* gene which show beta-haemolysis on the basis of its clinical origin.

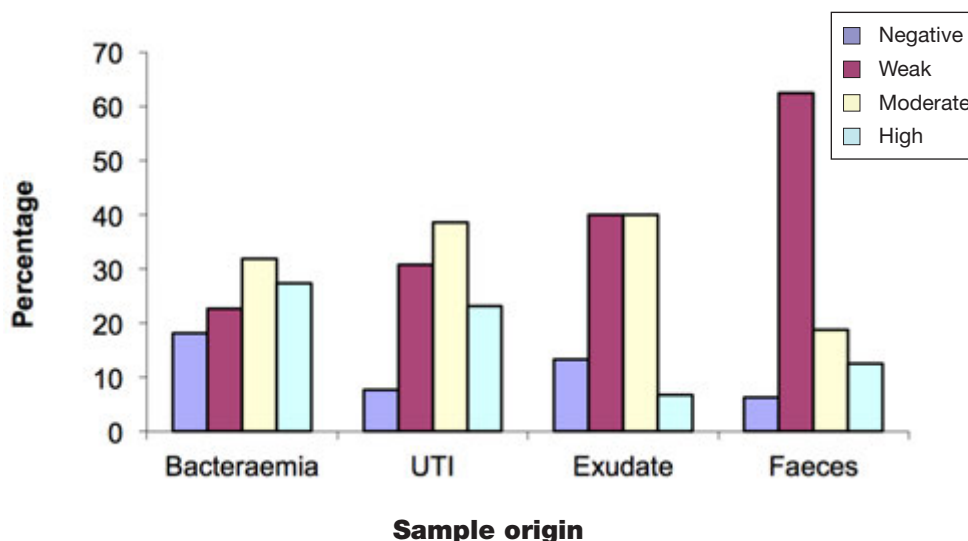


Figure 3 Strains distribution according to the intensity of biofilm production and origin of the isolate.

UTI and exudates than other clinical origin ($p<0.01$).

The endocarditis antigen *efaA* gene has been strongly associated with clinical isolates, especially from endocarditis, reaching a prevalence of 100% in different studies^{18,19}. In accordance with these studies, the prevalence in the strains studied here was 89.9% (table 2). However, we have observed a significant lower prevalence of *efaA* gene among hematologic isolates comparing with UTI (72.7% vs 96.1%, $p=0.022$) or exudates samples (72.7% vs 100%, $p=0.027$), but not with respect of faeces samples (72.7% vs 93.7%, $p=0.099$).

Aggregation substance, encoded by *asa1* gene is a pheromone-inducible protein involved in conjugation transfer and associated with virulence through the adhesion to epithelial cells^{24,25}. ACE is a collagen binding protein, associated with

adhesion to collagen (types I and IV) and laminin. *Asa1* and *ace* genes were found in the 78.5% and 57.0% of total isolates respectively (table 2). In both cases, faecal isolates showed the highest proportion of these genes (87.5% and 75.0% respectively).

Biofilm production has been recognized as an important factor in the in vivo growth of bacterial species⁷. In our work, 70 strains (88.6%) were positive for biofilm formation (table 3). We observed a higher number of biofilm producers than other study²³, but similar to the observed by Mohamed et al. when analyzed non-endocarditis strains²⁶. Among all studied strains, 29 (36.7%) were classified as weak biofilm producers, 26 (32.9%) moderate producers, and 15 (19.0%) showed high biofilm production. No significant difference ($p=0.349$) was observed between intensity of biofilm formation and sample origin (figure 3). Table 4 shows the relationship between the presence of the studied determinants and the degree of biofilm production. In this sense, biofilm has been related to the presence of *esp* gene¹⁹, although it has been also demonstrated the *esp*-independent biofilm production and the impact of *esp* on the degree of biofilm formation rather than the absence/presence of this phenomenon²⁷. In our work no association between *esp* gene presence and biofilm was observed ($p=0.53$), although a strong tendency was detected between biofilm production and *gelE* presence ($p=0.075$), a relationship previously described²⁷.

Since none of the virulence determinants studied (except gelatinase activity) was significantly associated with isolates from invasive diseases rather than with strains from non-in-

Biofilm production	N° strains	<i>gelE</i>	<i>asa1</i>	<i>cyfA</i>	<i>esp</i>	<i>efaA</i>	<i>ace</i>
Non producer	9	5 (55.6%)	6 (66.7%)	3 (33.3%)	6 (66.7%)	9 (100%)	3 (33.3%)
Weak	29	27 (93.1%)	25 (86.2%)	18 (65.5%)	18 (62.1%)	26 (89.7%)	18 (62.1%)
Moderate	26	22 (84.6%)	21 (80.8%)	10 (38.5%)	13 (50.0%)	24 (92.3%)	14 (53.8%)
High	15	8 (53.3%)	10 (66.7%)	5 (33.3%)	8 (53.3%)	12 (80.0%)	10 (66.7%)
Total	79	62 (78.5%)	62 (78.5%)	37 (46.8%)	45 (57.0%)	71 (89.87)	45 (57.0%)

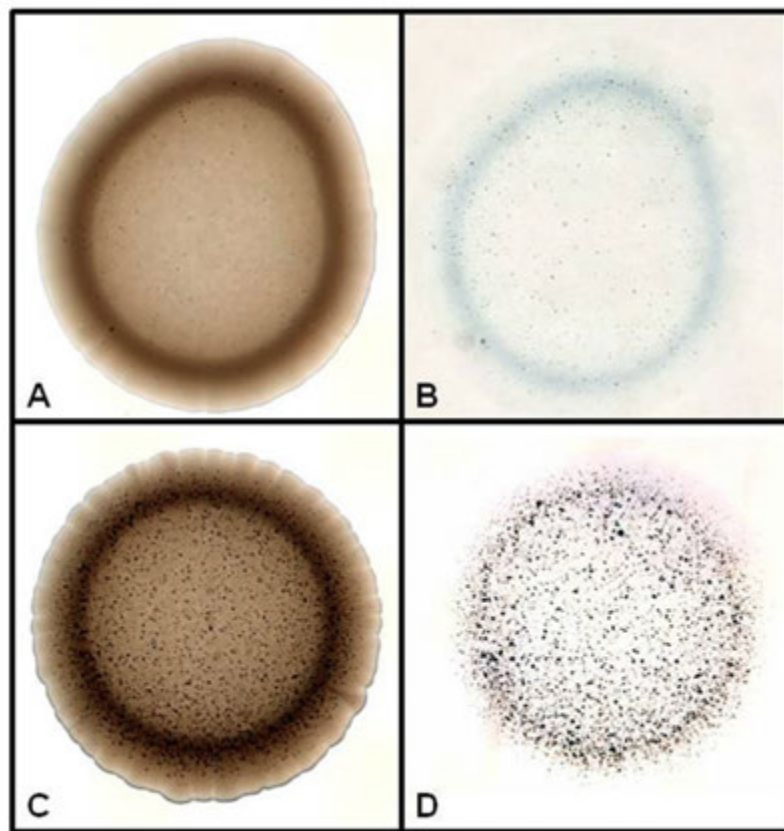


Figure 4 Agar invasion test. *E. faecalis* colonies/biofilms were grown onto Müeller-Hinton agar and visualized with a stereomicroscope (A, C). Then plates were washed and stained with methylene blue, and invasion footprint were analyzed under light microscope at 50x (B, D). A-B: EF2 strain (weak invasiveness); C-D: EF24 strain (high invasiveness).

vasive diseases, or commensals strains from healthy individuals, we focused our attention on a novel bacterial phenotypic character⁸. To our knowledge, this is the first study that investigates the occurrence of agar invasion as putative virulence marker in clinical and commensal strains. Agar invasion test was found positive in 62 (78.5%) isolates (table 3), where 21 (26.6%) showed weak, 14 (17.7%) moderate, and 27 (34.2%) high invasiveness level (figure 4). A significant difference

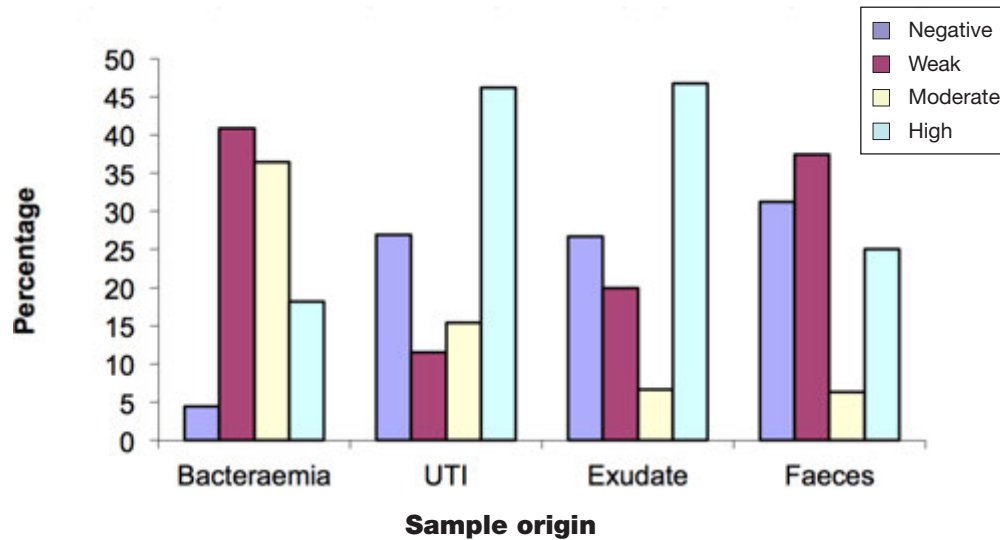


Figure 5 Strains distribution according to the intensity of agar invasion and origin of the isolate.

Table 5 Incidence (number of strains and percentage) of *E. faecalis* genes associated to virulence in relation to agar invasion.

Agar Invasion	N° strains	<i>gelE</i>	<i>asa1</i>	<i>cylA</i>	<i>esp</i>	<i>efaA</i>	<i>ace</i>
No invasion	17	13 (76.5%)	14 (82.4%)	9 (52.9%)	12 (70.6%)	15 (88.2%)	10 (58.8%)
Weak	21	19 (90.5%)	17 (81.0%)	12 (57.1%)	9(42.9%)	19 (90.5%)	13 (61.9%)
Medium	14	10 (71.4%)	10 (71.4%)	6 (42.9%)	5 (35.7%)	12 (85.7%)	5 (35.7%)
High	27	20 (74.1%)	21 (77.8%)	10 (37.0%)	19 (70.4%)	25 (92.6%)	17 (63.0%)
Total	79	62 (78.5%)	62 (78.5%)	37 (46.8%)	45 (57.0%)	71 (89.9%)	45 (57.0%)

($p=0.021$) was observed regarding the clinical origin and the agar invasion results (figure 5). 95.5% of isolates from invasive disease (hematologic samples) were positive for this test, higher than isolates from non-invasive diseases (73.1% UTI isolates, $p<0.01$; 73.3% strains from exudates, $p=0.018$) or commensal strains (68.7% faeces samples, $p=0.047$). None of the other genotypic and phenotypic virulence factors analyzed in this work showed statistical relation with agar invasion (table 5).

It is known that bacterial adaptation to laboratory conditions can modify the phenotype of different bacterial species²⁸. One of the characteristics which can be lost by standardized growth conditions is the bacterial virulence, which has been largely studied in the development of attenuated vaccine. Thus, the *in vitro* growth in absence of the host selective pressure can modify factors related to "in vivo growth". It has been described that the virulence phenotype could be lost by serial passages²⁹, being enough fifteen passages to observe significant changes in virulence expression patterns^{28,30,31}.

In order to determine if agar invasion phenotype could act as virulence factor, we generated three derivative strains adapted to laboratory conditions obtained after fifteen serial passages of three parental agar-invasion positive strains.

Table 6 Comparison of results observed with agar invasion test in three *E. faecalis* parental strains and their derivative strains obtained after fifteen serial passages.

Strain	Invasion relative area (%) (mean value \pm SD)	P value
EF43	Parental	1.4 \pm 0.44
	Derivative	1.0 \pm 0.41
EF46	Parental	14.6 \pm 3.56
	Derivative	7.4 \pm 0.96
EF75	Parental	15.7 \pm 1.57
	Derivative	8.4 \pm 0.26

Quantifying agar invasion of parental and derivative strains could determine whether the ability to invade the agar represents a selectable marker present in clinical strains that may be lost due to adaptation to laboratory conditions. Results

showed a significant reduction in the invasion area comparing with the respective parental strains (table 6), showing that agar invasion phenotype can be modulated by culture conditions as other virulence factors observed in other bacterial species^{29,30}.

Although it has been observed the existence of distinctive virulence patterns depending on the clinical origin of *E. faecalis* strains¹⁸, the presence of these determinants in samples from environment or healthy carriers^{18,19,32} shows that virulence characterization is insufficient taking into account that other factors, such as host status or competition with other bacterial species, could be essential in the pathology. Thus, further studies are necessary on *E. faecalis* virulent strains in order to cluster phenotypes to define colonization and/or host adaptation index³³ and the relevance of these determinants on the disease development.

Taken together, our data show that agar invasion may provide an ecological marker which could increase the probability of population adaptation in different environments and points out directions for future research although we are only at the beginning of their exploration. Even these results showed the potential relevance of this test in the study of enterococcal virulence, in order to shedding light on agar invasion further studies are necessary to determine the *in vivo* relevance of this finding and the potential correlation between agar invasion and tissue invasion in *E. faecalis*.

REFERENCES

- de Fátima Silva Lopes M, Ribeiro T, Abrantes M, Figueiredo Marques JJ, Tenreiro R, Crespo MT. Antimicrobial resistance profiles of dairy and clinical isolates and type strains of enterococci. *Int J Food Microbiol* 2005; 103: 191–8.
- Wells CL, Jechorek RP, Erlandsen SL. Evidence for the translocation of *Enterococcus faecalis* across the mouse intestinal tract. *J Infect Dis* 1990; 162:82–90.
- Clewell DB, Weaver KE. 1989. Sex pheromones and plasmid transfer in *Enterococcus faecalis*. *Plasmid* 1989; 21:175–84.
- Shankar N, Baghdayan AS, Gilmore MS. Modulation of virulence within a pathogenicity island in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Nature* 2002 13;417(6890):746–50.
- Coburn PS, Baghdayan AS, Dolan GT, Shankar N. Horizontal transfer of virulence genes encoded on the *Enterococcus faecalis* pathogenicity island. *Mol Microbiol* 2007. 63: 530–44.
- Oancea C, Klare I, Witte W, Werner G. Conjugative transfer of the virulence gene, *esp*, among isolates of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54: 232–5.
- Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the Natural environment to infectious diseases. *Nature Rev Microbiol* 2004; 2: 95–108.
- Gómez-Aguado F, Corcuera MT, García-Rey C, Gómez-Lus ML, Ramos C, Alonso MJ, Prieto J. Invasion of solid culture media: a widespread phenotypic feature of clinical bacterial isolates. *Rev Esp Quimioter* 2013; 26: 34–8.
- Corcuera MT, Gómez-Aguado F, Gómez-Lus ML, Ramos C, de la Parte MA, Alonso MJ, Prieto J. Qualitative and quantitative agar invasion test based on bacterial colony/biofilm. *J Microbiol Methods* 2013; 94:267–73.
- Coque TM, Patterson JE, Steckelberg JM, Murray BE. Incidence of hemolysin, gelatinase, and aggregation substance among enterococci isolated from patients with endocarditis and other infections and from feces of hospitalized and community-based persons. *J Infect Dis* 1995;171:1223–9.
- Willems RJ, Homan W, Top J, van Santen-Verheuevel M, Tribe D, Manziros X, Gaillard C, Vandembroucke-Grauls CM, Mascini EM, van Kregten E, van Embden JD, Bonten MJ. Variant *esp* gene as a marker of a distinct genetic lineage of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* spreading in hospitals. *Lancet* 2001; 357: 853–55.
- Vankerckhoven V, Van Autgaerden T, Vael C, Lammens C, Chapelle S, Rossi R, Jabes D, Goossens H. Development of a multiplex PCR for the detection of *asa1*, *gelE*, *cylA*, *esp*, and *hyl* genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of *Enterococcus faecium*. *J Clin Microbiol* 2004; 42:4473–9.
- Eaton, T. J. & Gasson, M. J.. Molecular screening of *Enterococcus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67:1628–35.
- Duprè I, Zanetti S, Schito AM, Fadda G, Sechi LA. Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolates collected in Sardinia (Italy). *J Med Microbiol* 2003;52:491–8.
- Huycke MM, Spiegel CA, Gilmore MS. Bacteremia caused by hemolytic, high-level gentamicin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991 ; 35:1626–34.
- Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Sabic B, Svabic – Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods* 2000; 40:175–9.
- Su YA, Sulavik MC, He P, Makinen KK, Makinen PL, Fiedler S, Wirth R, Clewell DB. Nucleotide sequence of the gelatinase gene (*gelE*) from *Enterococcus faecalis* subsp. *liquefaciens*. *Infect Immun* 1991; 59:415–20.
- Creti R, Imperi M, Bertuccini L, Fabretti F, Orefici G, Di Rosa R, Baldassarri L. Survey for virulence determinants among *Enterococcus faecalis* isolated from different sources. *J Med Microbiol* 2004;53:13–20.
- Ruiz-Garbajosa P, Cantón R, Pintado V, Coque TM, Willems R, Baquero F, del Campo R. Genetic and phenotypic differences among *Enterococcus faecalis* clones from intestinal colonisation and invasive disease. *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12:1193–8.
- Ike Y, Hashimoto H, Clewell DB. High incidence of hemolysin production by *Enterococcus (Streptococcus) faecalis* strains associated with human parenteral infections. *J Clin Microbiol* 1987; 25:1524–8.
- Ike Y, Clewell DB, Segarra RA, Gilmore MS. Genetic analysis of the pAD1 hemolysin/bacteriocin determinant in *Enterococcus faecalis*: Tn917 insertional mutagenesis and cloning. *J Bacteriol* 1990; 172:155–63.

22. Shankar N, Lockett CV, Baghdayan AS, Drachenberg C, Gilmore MS, Johnson DE. Role of *Enterococcus faecalis* surface protein Esp in the pathogenesis of ascending urinary tract infection. *Infect Immun* 2001; 69:4366-72.
23. Toledo-Arana, A, Valle, J., Solano, C. & 7 other authors. The Enterococcal Surface Protein, Esp, is involved in *Enterococcus faecalis* biofilm formation. *Appl Environ Microbiol* 2001; 67:4538-45.
24. Kreft B, Marre R, Schramm U, Wirth R. Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. *Infect Immun* 1992; 60:25-30.
25. Olmsted SB, Dunny GM, Erlandsen SL, Wells CL. A plasmid-encoded surface protein on *Enterococcus faecalis* augments its internalization by cultured intestinal epithelial cells. *J Infect Dis* 1994; 170:1549-56.
26. Mohamed JA, Huang W, Nallapareddy SR, Teng F, Murray BE. Influence of origin of isolates, especially endocarditis isolates, and various genes on biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *Infect Immun* 2004;72:3658e63.
27. Kristich CJ, Li YH, Cvitkovitch DG, Dunny GM. Esp-independent biofilm formation by *Enterococcus faecalis*. *J Bacteriol* 2004; 186:154.
28. Fux CA, Shirtliff M, Stoodley P, Costerton JW. Can laboratory reference strains mirror 'real-world' pathogenesis? *Trends Microbiol* 2005; 13(2):58-63.
29. Forsberg CM, Bullen JJ. The effect of passage and iron on the virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Path*, 1972; 25: 65-8.
30. Somerville GA, Beres SB, Fitzgerald JR, DeLeo FR, Cole RL, Hoff JS, Musser JM. In vitro serial passage of *Staphylococcus aureus*: changes in physiology, virulence factor production, and *agr* nucleotide sequence. *J Bacteriol* 2002; 184:1430-7.
31. Saint-Ruf C, Garfa-Traoré M, Collin V, Cordier C, Franceschi C, Matic I. Massive diversification in aging colonies of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 2014;196:3059-73.
32. Johansson D, Rasmussen M. Virulence factors in isolates of *Enterococcus faecalis* from infective endocarditis and from the normal flora. *Microb Pathog* 2013; 55: 28e31
33. Garmendia J, Marti-Llitas P, Moleres J, Puig C, Bengoechea JA. Genotypic and phenotypic diversity in the noncapsulated *Haemophilus influenzae*: adaptation and pathogenesis in the human airways. *Int Microbiol* 2012; 15:159-72.

Letter to the Editor

Frederic Ballester¹
Isabel Pujol¹
Pitter Cueto²
Conxita Rovira²
Simona Iftimie³
Jordi Camps⁴

Emergence of daptomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a critically ill patient with postoperative intra-abdominal sepsis

¹Microbiology Department, Laboratori de Referència Sud, Hospital Universitari Sant Joan, Reus (Tarragona)

²Intensive Care Unit, Hospital Universitari Sant Joan, Reus (Tarragona)

³Infection Control Team, Internal Medicine Department, Hospital Universitari Sant Joan, Reus (Tarragona)

⁴Unitat de Recerca Biomèdica, Hospital Universitari Sant Joan, Reus (Tarragona)

Sir,

Daptomycin is a lipopeptide antibiotic with a potent bactericidal activity against a large number of Gram-positive bacteria. The mechanism of action of this antibiotic is unique since, in presence of calcium, daptomycin molecule inserts into the cell membrane, disrupts its homeostasis, and causes rapid bacterial death. In clinical practice, daptomycin is used for the treatment of serious *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* infections, particularly those caused by vancomycin- or linezolid-resistant strains¹.

Overall, daptomycin exhibits a good *in vitro* activity against enterococci. An extensive review of the literature estimated that only 0.6% of clinical isolates were resistant to daptomycin² while resistance is rarely observed *in vitro*³. However, only two years after its approval in the U.S. in 2003, the first case of daptomycin-resistant *Enterococcus* infection (DREI) was already reported⁴. Subsequently, some additional cases have been described². Initial reports on DREI involved patients that had been previously treated with daptomycin, but DREI can also occur in patients in which this antibiotic has not been previously employed⁵. Recently, several retrospective case series have been published showing that the more frequent types of DREI are associated with bacteraemia, intra-abdominal infections and urinary tract infections⁶⁻⁷.

Most of well-documented cases of DREI (those including clinical, microbiological, treatment and outcome data) have been described in the USA. Here we report a case of DREI in a patient from Spain that developed an intra-abdominal sepsis after bariatric surgery.

A 57-year-old woman with morbid obesity (body mass index 46.64 kg/m²) and a medical history of hypertension, type 2 diabetes, hyperuricemia, rheumatoid arthritis and appendectomy, underwent an elective laparoscopic gastrojejunal bypass. In the early postoperative period she developed abdominal

distention and respiratory distress. Laboratory data showed a white blood cell count of 11.8x10⁹/L with 89.8% polymorphonuclear (PMN) leukocytes and C-reactive protein, glucose and creatinine levels of 488 mg/L, 34.4 mmol/L and 189 µmol/L, respectively. Three days after surgery, she was febrile (38.5°C), her condition worsened rapidly and she developed a septic shock with respiratory and renal failures. She was admitted to the ICU under endotracheal intubation and mechanical ventilation. Fluid replacement, hemodynamic support, intravenous insulin and hemofiltration were started. An urgent laparotomy was performed, revealing perforation of the sigma and faecal peritonitis. A sigmoidectomy with terminal colostomy was performed and intravenous piperacillin/tazobactam was prescribed. Blood cultures were positive for a viridans group *Streptococcus*, *Bacteroides fragilis* and *Clostridium paraputrificum*. A mixed aerobic and anaerobic microbiota was isolated in peritoneal pus. On postoperative day 8 the patient became febrile again and a purulent exudate was found in the surgical wound. The blood white cell count raised to 41.3 x10⁹/L with 88% PMN leukocytes. Culture of the wound exudate was positive for a daptomycin-susceptible *Enterococcus faecium* (MIC=4 mg/L). Blood cultures were negative. Piperacillin/tazobactam was stopped and the patient was given daptomycin (8 mg/kg of body weight intravenously every 24 hours) for 14 days, but fever persisted. Meropenem and amikacin were used instead of daptomycin for an additional period of 14 days, but wound infection worsened and total breakdown occurred. Moreover, a colonic fistula was detected. On postoperative day 36 patient's fever subsided. Blood cultures yielded an *E. faecium* isolate which was resistant to daptomycin (MIC=24 mg/L).

The microorganism was also resistant to ampicillin, levofloxacin, gentamicin (MIC>500 mg/L), rifampicin and imipenem, and susceptible to vancomycin and linezolid. Linezolid was started and fever abated. However, on the following weeks, the patient suffered a complicated course; her condition deteriorated gradually and finally went into multiple organ failure. She died on 80 day after the initial gastric bypass procedure.

Susceptibility testing was performed using a Wider broth microdilution system (Francisco Soria Melguizo, SA, Madrid, Spain). Non susceptibility to daptomycin was confirmed using

Correspondence:
Frederic Ballester
Microbiology Department, Laboratori de Referència Sud, Hospital Universitari Sant Joan, Avinguda Cambra de Comerç 42, 43204 Reus (Tarragona), Spain
E-mail: fballester@grupsgassa.com

the E-test method (AB Biodisk), supplemented with additional calcium. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines were used for interpretation of MIC results⁹.

Intra-abdominal infection, the disease that our patient suffered, is one of the more frequently described types of DREI. Together with previous daptomycin exposure, significant risk factors for DREI infection are a previous abdominal surgery, the use of bactericidal antibiotics and a prolonged stay in the ICU^{6,9,10}. All of these medical conditions were found in the present case. The duration of daptomycin therapy in patients having DREI with previous daptomycin use, is usually higher than 10 days⁵. The patient also accomplished this condition, since she received daptomycin for a total period of 14 days.

Molecular typing has shown that there is a great genetic variability among the different strains of daptomycin resistant enterococci that can be isolated in hospitals. This point indicates that daptomycin resistance emerges separately among diverse strains of enterococci with no clonal identity. Daptomycin resistance is more likely to result from mutations that occur in the patient's intestinal microbiota instead of patient-to-patient transmission in an outbreak of clonally related bacteria⁶.

The mechanisms of daptomycin resistance in enterococci are not completely understood. They involve alterations in the structure and the functions of the cell membrane caused by mutations in several genes that are associated with cell envelope homeostasis or related to the phospholipid metabolism modulating the cell membrane ionic charge¹¹.

An increase of DREI incidence has been reported with the development of the clinical use of daptomycin⁶. As daptomycin prescription is likely to expand in the next years, clinicians and microbiologists must be aware of DREI occurrence in order to promptly implement the appropriate control measures.

REFERENCES

1. Kanafani ZA, Corey GR. Daptomycin: a rapidly bactericidal lipopeptide for the treatment of Gram-positive infections. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2007; 5: 177-84.
2. Kelesidis T, Humphries R, Uslan DZ, Pegues DA. Daptomycin non-susceptible enterococci: an emerging challenge for clinicians. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 228-34.
3. Silverman JA, Oliver N, Andrew T, Li T. Resistance studies with daptomycin. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 1799-02.
4. Lewis II JS, Owens A, Cadena J, Sabol K, Patterson JE, Jorgensen JH. Emergence of daptomycin resistance in *Enterococcus faecium* during daptomycin therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 1664-65.
5. Lesho EP, Wortmann GW, Craft D, Moran KA. De novo daptomycin nonsusceptibility in a clinical isolate. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 673.
6. Storm JC, Diekema DJ, Kroeger JS, Johnson SJ, Johansson B. Daptomycin exposure precedes infection and/or colonization with daptomycin non-susceptible enterococcus. *Antimicrob Resist Infect Control* 2012; 1:19.
7. Kamboj M, Cohen N, Gilhuley K, Babady NE, Seo SK, Sepkowitz KA. Emergence of daptomycin-resistant VRE: experience of a single institution. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2011; 32: 391-94.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. CLSI document M100-S21. Wayne, PA.
9. Judge T, Pogue JM, Marchaim D et al. Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci with reduced susceptibility to daptomycin. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2012; 33: 1250-54.
10. Kelesidis T, Chow ALP, Humphries R, Uslan DZ, Pegues D. Case-control study comparing *de novo* and daptomycin exposed daptomycin-non susceptible *Enterococcus* infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2012 49: 77-81.
11. Tran TT, Panesso D, Gao H et al. Whole -genome analysis of a daptomycin-susceptible *Enterococcus faecium* strain and its daptomycin-resistant variant arising during therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 261-68.

Carta al Director

Beatriz Lacruz¹
María Pilar Huarte²
Gregorio Tiberio¹
Luis Torroba³
Iván Quispe⁴

Bacteriemia por *Helicobacter cinaedi* en paciente infectado por virus hepatitis C tratado con triple terapia

¹Servicio de Medicina Interna, Complejo Hospitalario de Navarra B, Pamplona.

²Servicio de Digestivo, Complejo Hospitalario de Navarra B, Pamplona.

³Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario de Navarra B, Pamplona.

⁴Servicio de Hematología, Complejo Hospitalario de Navarra B, Pamplona.

Sr. Editor: *Helicobacter cinaedi*, especie enterohepática de helicobacter, causa infrecuente de gastroenteritis y bacteriemia afecta principalmente a pacientes inmunodeprimidos y puede producir manifestaciones cutáneas. Presentamos el caso de un paciente con hepatitis C en tratamiento con triple terapia interferon pegilado alfa-2a, ribavirina y telaprevir que desarrolla bacteriemia por *H. cinaedi*. Encontramos necesario publicar este caso debido a su escasa frecuencia, lento crecimiento de la bacteria que retrasa el diagnóstico y la necesidad de tratamiento adecuado para prevenir recurrencias.

Caso clínico: Varón de 52 años homosexual diagnosticado de infección crónica por virus C genotipo 1 en el año 1997 en seguimiento por el servicio de Digestivo. Recibió tratamiento inicialmente con interferon con recaída posterior y desaparición de controles sucesivos hasta 2012 que acude a revisión y se objetiva carga viral de 51 millones de copias IU/ml, genotipo IL 28B CC. Se inició tratamiento con peginterferon alfa-2a (180 microgramos/semana) y ribavirina (1200 mg/día ajustado por peso). Cuatro semanas después se observó reducción de la carga viral. En ausencia de respuesta virológica rápida y grado de fibrosis 3, se añadió telaprevir 750 mg/8 horas y tras 2 semanas de tratamiento la carga viral fue negativa pero apareció trombocitopenia en analítica de control. Una semana más tarde comenzó rash pruriginoso en extremidades que fue biopsiado con resultado de toxicodermia. Acudió a urgencias por fiebre, persistencia de lesión cutánea y trombocitopenia. Se suspendió tratamiento antiviral y se recogieron hemocultivos. Se inició tratamiento antibiótico empírico con cloxacilina y gentamicina, una semana más tarde el paciente permanecía con fiebre, lesión cutánea y trombocitopenia. Trece días después se aisló en hemocultivos un bacilo gramnegativo identificado como *H. cinaedi* por lo que se modificó el tratamiento antibiótico. Recibió imipenem y gentamicina durante 2 semanas y doxicilina durante 5 semanas. Buena evolución clínica

con desaparición de la fiebre y de las lesiones cutáneas. En sucesivos controles clínicos se observó normalización de la cifra de plaquetas así como carga viral, indetectable a las 24 semanas tras la suspensión de tratamiento antiviral. Hemocultivos de control negativos, sin evidencia de recidiva posterior.

La infección por *H. cinaedi* frecuentemente ocurre como infección oportunista, en pacientes con infección por VIH, alcoholismo crónico, diabetes o enfermedad maligna, asociadas con tratamiento inmunosupresor^{1,2}. Hay algunos casos de bacteriemia en pacientes inmunocompetentes publicados en la literatura. El mecanismo de infección es desconocido, presumiblemente oral. *H. cinaedi* ha sido identificado en muchos animales, ratas, hámsters, perros, gatos³. Un desorden en la inmunidad causado por inhibición de inmunidad celular inducido por terapia inmunosupresora podría haber influido en el desarrollo de la infección en este paciente.

Las manifestaciones clínicas son variadas desde proctocolitis, gastroenteritis, meningitis, rash o bacteriemia³. La manifestación cutánea de bacteriemia por *H. cinaedi* más frecuente es la celulitis superficial, además se han descrito un amplio espectro de enfermedades dermatológicas con terapia del VHC, desde prurito con o sin urticaria a rash eczematoso⁴. Rash y prurito fueron más frecuentes en los pacientes tratados con telaprevir⁵.

Helicobacter crece lentamente en condiciones microaeróbicas y es difícil detectarlo en la mayoría de laboratorios⁶. Puede obtenerse crecimiento en medio no selectivo (sangre o agar chocolate) incubado en atmósfera al 35% microaeróbica (5% O₂)³. En este caso, *H. cinaedi* se aisló los hemocultivos y fue el único microorganismo cultivado en este caso. Aunque la medida de anticuerpos IgG es útil para el seguimiento a largo plazo, no aporta información sobre la presencia de bacteria viable en el huésped. El conocimiento reciente del genoma *H. cinaedi* proporciona la oportunidad de desarrollar nuevos métodos diagnósticos⁶. No hay guías clínicas claras disponibles en la literatura en cuanto a la elección y duración de terapia antibiótica. Estudios *in vitro* muestran que es sensible a ampicilina, tetraciclina, ácido nalixídico, rifampicina, cloranfenicol y gentamicina⁷. Muchos son resistentes a clindamicina, eritromicina y trimetoprim/sulfametoxazol. La mejor elección para trata-

Correspondencia:
Beatriz Lacruz
Servicio de Medicina Interna, Complejo Hospitalario de Navarra B, Pamplona.
E-mail: beatriz.lacruz4@gmail.com

miento oral es ciprofloxacino⁸. La duración de antibioterapia es variable desde 10 días a 12 semanas, debido a la frecuencia de recurrencias, es necesario prolongar tratamiento antibiótico³.

El tratamiento que recibió nuestro paciente fue útil para erradicar *H. cinaedi* sin evidencia de recurrencias. No hemos encontrado casos en la literatura de bacteriemia por *H. cinaedi* en pacientes con VHC en tratamiento con triple terapia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kikuchi H, Asako K, Tansho S, Ueda T, Koshio O, Ubagai T, et al. Recurrent *Helicobacter cinaedi* cellulitis and bacteremia in a patient with systemic lupus erythematosus. *Int Med* 2012; 51: 3185-8.
2. Kim SK, Cho EJ, Sung H, An D, Park SJ, Kim MN, et al. A case of *Helicobacter cinaedi* bacteremia in an asplenic patient. *Ann Lab Med* 2012; 32: 433-7.
3. Uçkay I, Garbino J, Dietrich PY, Ninet B, Rohner P and Jacomo V. Recurrent bacteremia with *Helicobacter cinaedi*: case report and review of the literature. *BMC Infect Dis* 2006; 6:86.
4. Chopra A, Klein P, Drinnan T and Lee S. How to optimize HCV therapy in genotype 1 patients: management of side-effects. *Liver International* 2013; 33, suppl1:30-4.
5. McHutchison JG, Manns MP, Muir AJ, Terrault NA, Jacobson IM, Afdhal NH, et al. Telaprevir for previously treated chronic HCV infection. *New Eng J Med* 2010; 362: 1292-303.
6. Oyama K, Khan S, Okamoto T, Fujii S, Ono K, Matsunaga T, et al. Identification of and screening for human *Helicobacter cinaedi* infections and carriers via nested PCR. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 3893-900.
7. Moore JE, Barton MD, Blair IS, Corcoran D, Dooley JS, Fanning S, et al. The epidemiology of antibiotic resistance in *Campylobacter*. *Microbes Infect* 2006; 8:1955-66.
8. Burman WJ, Cohn DL, Reves RR, Wilson ML. Multifocal cellulitis and monoarticular arthritis as manifestations of *Helicobacter cinaedi* bacteremia. *Clin Infect Dis* 1995; 20:564-70.

Carta al Director

Gemma Jiménez-Guerra¹
Consuelo Miranda-Casas¹
José María Navarro-Mari¹
José Gutiérrez-Fernández^{1,2}

Diagnóstico de paludismo en un hospital regional con asistencia a inmigrantes y viajeros

¹Área de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves-Instituto de Investigación Biosanitaria. Granada.
²Área de Microbiología. Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Sr. Editor: el paludismo es una de las enfermedades parasitarias de mayor importancia en nuestro medio por su gravedad clínica. Su forma importada es la que principalmente diagnosticamos¹. Es sobre todo la inmigración irregular la que ha hecho que sea una enfermedad reemergente en España, ya sea por la presencia de enfermedad compatible a su llegada, o por la reinfección, a causa de quimioprofilaxis incorrecta, tras la visita a su país de origen. Otra consecuencia del mal cumplimiento de la profilaxis es el aumento de las resistencias farmacológicas². En este trabajo se describen los diagnósticos de paludismo realizados en el laboratorio del Hospital Virgen de las Nieves de Granada durante un periodo de ocho años. Se realizó un estudio retrospectivo de los informes positivos, emitidos entre enero de 2006 y diciembre de 2013, en sujetos con sospecha de paludismo. Se incluyeron además los datos relativos al país probable de la adquisición, tratamiento realizado y necesidad de ingreso en UCI o de transfusión de hemáties. El estudio parasitológico incluyó: 1) Visualización de 4 frotis de sangre con tinción panóptica; y 2) Estudio de antígenos de *Plasmodium* (específico para *Plasmodium falciparum* y común a las especies de plasmodio) mediante inmunocromatografía (ICT). Hasta diciembre de 2012 se usó la prueba Binax NOW Malaria (que detecta HRP-2 y aldolasa) y posteriormente Onsite Pf/pan Ag Rapid (que detecta de HRP-2 y pan-LDH). En caso de positividad de estas sin correspondencia con la visualización se estudió el ADN de especie mediante PCR múltiple en el Centro Nacional de Microbiología. Los resultados se reflejan en la tabla 1. Se realizaron 130 estudios de pacientes diferentes, de los que en 19 (14,6%) resultaron positivos la antigenemia y/o la visualización, y estos procedieron de 14 adultos (12 hombres y 2 mujeres) y 5 niños (2 niños y 3 niñas). La distribución anual fue: en el año 2006, 1 (5,2%); en el 2010, 3 (15,7%); en el 2011, 4 (21,1%); en el 2012, 8 (42,1%) y en el 2013, 3 (15,7%). La observación microscópica fue positiva en 17 (89,5%) pacientes, correspondiendo 14 (73,7%) a *P. falciparum*, sólo o acompañado de otra especie. La determinación antigénica fue positiva en 18 (94,7%) pacientes. El estudio de ADN por PCR fue necesario en 13 (68,4%) casos, siendo positiva en 10 (76,9%), negativa en 2 (15,4%) y en el caso número 5 no se hizo. En un caso hubo infección mixta por *P. falciparum* y *P. ovale*, y el antígeno panmalarial no fue visible. Esto se puede deber a la menor sensibilidad para la detección de aldolasa de especies diferentes a *P. falciparum*, por la menor afinidad por los anticuerpos³. Se detectó ADN parasitario de *P. ovale*, y procedió de Senegal. Este hecho concuerda con la mayor presencia de *P. ovale* en África tropical. Doce (63,2%) pacientes necesitaron ser hospitalizados, incluyendo los 5 pediátricos (2 en UCI). Hubo transfusión de hemáties en 3 (15,7%), todos pediátricos. En 10 (52,6%) pacientes el tratamiento fue con atovacuona – proguanil. Los principales países de adquisición fueron Senegal (con 8 casos) y Guinea Ecuatorial (con 5), y esto concuerda parcialmente con estudios que indican que la mayoría de los casos importados provienen de Guinea Ecuatorial. En los casos en los que nos consta el país de adquisición, el paciente procedía de África, donde se adquiere más del 85% de la malaria clínica mundial⁴, implicándose en todos estos casos *P. falciparum* (a excepción de un caso por *P. ovale*) principal agente productor de malaria en viajeros y en el África Subsahariana. En los 3 casos en los que se desconoce el país de adquisición, la especie implicada es también *P. falciparum*. Hay estudios que demuestran que, en viajeros retornados, la pan-LDH tiene una mayor sensibilidad que la aldolasa en la detección de la infección por especies diferentes a *P. falciparum*; y que para *P. falciparum* la detección de HRP-2 es superior a la LDH^{5,6}. En este tipo de pacientes, la ICT produce pocos falsos positivos (por factor reumatoide, hepatitis C, esquistosomiasis, dengue, tripanosomiasis o leishmaniasis⁷). Así el caso nº 12 podría corresponder a este fenómeno al ser un paciente con VIH y toxoplasmosis. Otra causa de antigenemia aislada puede ser por un lento aclaramiento tras el tratamiento⁸, lo cual puede haber ocurrido en el paciente nº 13. Los falsos negativos en la ICT se pueden deber a una parasitemia baja o excesivamente alta, sobretudo en la no detección de HRP-2³. Se estima que existen unos 200 equipos diferentes de ICT que han sido evaluados^{4,5}. Estos suponen una buena opción para el diagnóstico en las zonas no endémicas, ya que se puede tener menor en-

parum, sólo o acompañado de otra especie. La determinación antigénica fue positiva en 18 (94,7%) pacientes. El estudio de ADN por PCR fue necesario en 13 (68,4%) casos, siendo positiva en 10 (76,9%), negativa en 2 (15,4%) y en el caso número 5 no se hizo. En un caso hubo infección mixta por *P. falciparum* y *P. ovale*, y el antígeno panmalarial no fue visible. Esto se puede deber a la menor sensibilidad para la detección de aldolasa de especies diferentes a *P. falciparum*, por la menor afinidad por los anticuerpos³. Se detectó ADN parasitario de *P. ovale*, y procedió de Senegal. Este hecho concuerda con la mayor presencia de *P. ovale* en África tropical. Doce (63,2%) pacientes necesitaron ser hospitalizados, incluyendo los 5 pediátricos (2 en UCI). Hubo transfusión de hemáties en 3 (15,7%), todos pediátricos. En 10 (52,6%) pacientes el tratamiento fue con atovacuona – proguanil. Los principales países de adquisición fueron Senegal (con 8 casos) y Guinea Ecuatorial (con 5), y esto concuerda parcialmente con estudios que indican que la mayoría de los casos importados provienen de Guinea Ecuatorial. En los casos en los que nos consta el país de adquisición, el paciente procedía de África, donde se adquiere más del 85% de la malaria clínica mundial⁴, implicándose en todos estos casos *P. falciparum* (a excepción de un caso por *P. ovale*) principal agente productor de malaria en viajeros y en el África Subsahariana. En los 3 casos en los que se desconoce el país de adquisición, la especie implicada es también *P. falciparum*. Hay estudios que demuestran que, en viajeros retornados, la pan-LDH tiene una mayor sensibilidad que la aldolasa en la detección de la infección por especies diferentes a *P. falciparum*; y que para *P. falciparum* la detección de HRP-2 es superior a la LDH^{5,6}. En este tipo de pacientes, la ICT produce pocos falsos positivos (por factor reumatoide, hepatitis C, esquistosomiasis, dengue, tripanosomiasis o leishmaniasis⁷). Así el caso nº 12 podría corresponder a este fenómeno al ser un paciente con VIH y toxoplasmosis. Otra causa de antigenemia aislada puede ser por un lento aclaramiento tras el tratamiento⁸, lo cual puede haber ocurrido en el paciente nº 13. Los falsos negativos en la ICT se pueden deber a una parasitemia baja o excesivamente alta, sobretudo en la no detección de HRP-2³. Se estima que existen unos 200 equipos diferentes de ICT que han sido evaluados^{4,5}. Estos suponen una buena opción para el diagnóstico en las zonas no endémicas, ya que se puede tener menor en-

Correspondencia:
José Gutiérrez Fernández
Microbiología.
Hospital Virgen de las Nieves. s/n
Avenida de las Fuerzas Armadas 12
18012 Granada
E-mail: josegf@ugr.es

Tabla 1 Resultados obtenidos en las muestras con pruebas positivas para *Plasmodium*.

Muestra	Antigenemia	PCR	Visualización	Tratamiento	Ingreso	Transfusión	Origen
1	Negativa	No necesaria	<i>P. falciparum</i>	Mefloquina	Hospitalario	Sí	Guinea Ecuatorial
2	<i>Plasmodium</i> spp.	No necesaria	<i>P. falciparum</i>	Atovacuona - Proguanil	Hospitalario	No	Senegal
3	<i>P. falciparum</i>	No necesaria	<i>P. falciparum</i>	Atovacuona - Proguanil	Hospitalario	No	Senegal
4	<i>P. falciparum</i>	No necesaria	<i>P. falciparum</i>	Atovacuona - Proguanil	Hospitalario	No	Senegal
5	<i>P. falciparum</i>	No realizada	<i>P. falciparum</i> + <i>Plasmodium</i> spp.	Atovacuona - Proguanil	No ingresado	No	Senegal
6	<i>P. falciparum</i>	No necesaria	<i>P. falciparum</i>	Atovacuona - Proguanil	No ingresado	No	Desconocido
7	<i>P. falciparum</i>	No necesaria	<i>P. falciparum</i>	Atovacuona - Proguanil	Hospitalario	No	Mali
8	<i>P. falciparum</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium</i> spp.	Atovacuona - Proguanil	UCI	Sí	Senegal
9	<i>P. falciparum</i> + <i>Plasmodium</i> spp.	<i>P. falciparum</i>	<i>P. falciparum</i>	Atovacuona - Proguanil	No ingresado	No	Nigeria
10	<i>P. falciparum</i> + <i>Plasmodium</i> spp.	<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium</i> spp.	Información no disponible	Información no disponible	No	Desconocido
11	<i>Plasmodium</i> spp.	<i>P. ovale</i>	<i>Plasmodium</i> spp.	Atovacuona - Proguanil	Hospitalario	Sí	Guinea Ecuatorial
12	<i>Plasmodium</i> spp.	Negativa	Negativa	Otras causas	Hospitalario	No	Guinea Ecuatorial
13	<i>P. falciparum</i>	Negativa	Negativa	Atovacuona - Proguanil	No ingresado	No	Guinea Ecuatorial
14	<i>P. falciparum</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	Atovacuona - Proguanil	Hospitalario	No	Senegal
15	<i>P. falciparum</i>	<i>P. falciparum</i>	<i>P. falciparum</i> + <i>Plasmodium</i> spp.	Primaquina	Hospitalario	No	Senegal
16	<i>P. falciparum</i> + <i>Plasmodium</i> spp.	<i>P. falciparum</i>	<i>P. falciparum</i>	Artesunato - Dihidrartermisina - Clindamicina	UCI	No	Guinea Ecuatorial
17	<i>P. falciparum</i>	No necesaria	<i>P. falciparum</i>	Cloxaciclina Quinina	Hospitalario	No	Ghana
18	<i>Plasmodium</i> spp.	<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium</i> spp.	Información no disponible	Información no disponible	No	Desconocido
19	<i>P. falciparum</i> + <i>Plasmodium</i> spp.	<i>P. falciparum</i>	<i>Plasmodium</i> spp.	Quinina - Eurartemisina	UCI	No	Senegal

trenamiento para la detección por microscopía. Esta se debe seguir realizando porque permite la diferenciación de especies, la confirmación de la ICT positiva e informa de la carga parasitaria. El estudio de ADN, por su complejidad, se usa en las discrepancias entre los resultados de antigenemia y visualización⁹. De este modo, se hizo una utilización, a nuestro entender correcta, de la PCR en nuestro entorno. En conclusión, la ICT se ha mostrado útil para el estudio del paludismo en nuestro medio, y se debe asociar a la visualización de los frotis sanguíneos.

BIBLIOGRAFÍA

- Machín I, Martín A. Paludismo en países no endémicos. Revisión de la situación actual. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001;19:270-2.
- Malaria, 1982-1997. *Wkly Epidemiol Rec* 1999;74:265-70.
- Maltha J, Gillet P, Jacobs J. Malaria rapid diagnostic tests in travel medicine. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:408-15.
- WHO. Malaria rapid diagnostic test performance. Results of WHO product testing of malaria RDTs: Round 2 (2009). Geneva: World Health Organization; 2009.
- Unicef. Malaria diagnosis: a guide for selecting rapid diagnostic test kits: Unicef; 2007. 7 p.
- Marx A, Pewsner D, Egger M, Nuesch R, Bucher HC, Genton B, et al. Meta-analysis: accuracy of rapid tests for malaria in travelers returning from endemic areas. *Ann Intern Med* 2005;142:836-46.
- Maltha J, Gillet P, Jacobs J. Malaria rapid diagnostic tests in endemic settings. *Clin Microbiol Infect* 2013;19:399-407.
- Murray CK, Gasser RA, Jr., Magill AJ, Miller RS. Update on rapid diagnostic testing for malaria. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:97-110.

9. Khairnar K, Martin D, Lau R, Ralevski F, Pillai DR. Multiplex real-time quantitative PCR, microscopy and rapid diagnostic immunochromatographic tests for the detection of Plasmodium spp: performance, limit of detection analysis and quality assurance. *Malar J* 2009;8:284.



Recomendaciones de tratamiento de la infección fúngica invasora por hongo filamentoso en el paciente hematológico 2012

