

- abbreviated battery of tests. *J Clin Microbiol.* 2002;40:1346-51.
8. Georghiou PR, Blacklock ZM. Infection with *Nocardia* species in Queensland. A review of 102 clinical isolates. *Med J Aust.* 1992;156:692-7.

### Caracterización de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* con alta resistencia a fluoroquinolonas aisladas en Vizcaya

**Sr. Editor:** En la actualidad, la alta prevalencia de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes a fluoroquinolonas (NGRQ) constituye un problema en muchos países, con gran repercusión en el tratamiento de elección de la gonorreal<sup>1</sup>. En nuestro hospital, desde su aparición en 2004, todas las NGRQ aisladas han presentado resistencia de alto nivel (concentración inhibitoria mínima [CIM]  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ ). El objetivo del presente estudio fue determinar los mecanismos moleculares presentes en estas cepas, y establecer la relación genética entre ellas mediante electroforesis en gel de campos pulsantes (PFGE).

Se analizaron 24 cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas consecutivamente en el período 2004-2005 en 22 varones con uretritis y 2 mujeres, una con cervicitis y otra con enfermedad inflamatoria pélvica (EIP). Se obtuvo información en el momento de la consulta sobre edad, sexo, hábitos sexuales y lugar de adquisición de la infección. La determinación de la CIM a ciprofloxacino, penicilina y tetraciclina se realizó mediante Etest (Biodisk, Solna, Suecia) en medio GC agar base suplementado (BioMérieux, Francia). Se utilizó *N. gonorrhoeae* ATCC 49226 como cepa control. Se identificaron las mutaciones en los genes *gyrA*, *gyrB* y *parC* de 8 NGRQ y 6 cepas sensibles mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación de los productos amplificados que incluían las regiones QRDR. El ADN genómico de todas las cepas resistentes se exa-

minó por PFGE tras digestión con la endonucleasa *SpeI*. Las similitudes de los patrones de bandas se estimaron mediante el coeficiente de Dice y se analizaron usando el programa Molecular Analyst Fingerprinting (Image Analysis System, Bio-Rad).

En nuestro hospital, la primera NGRQ (cepa 1) se aisló en 2004. El aislado procedía de un paciente con uretritis adquirida en Rumanía, con una CIM de  $16 \mu\text{g/ml}$ . Durante el período 2004-2005 se aislaron 24 cepas de gonococo, 8 de las cuales (33%) presentaban resistencia de alto nivel a ciprofloxacino (CIM  $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ ). No se aisló ninguna cepa con resistencia intermedia. La sensibilidad de estas cepas a la penicilina y la tetraciclina se muestran en la tabla 1. Todos los pacientes eran heterosexuales, con edades comprendidas entre los 22 y los 56 años. Dos pacientes (cepas 2 y 6) habían sido tratados días antes con ciprofloxacino, sin responder al tratamiento. El análisis molecular mostró diferentes patrones de mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* en las 8 cepas resistentes a ciprofloxacino, si bien todas ellas contenían de forma constante mutaciones en los codones Ser91 y Asp95 en *gyrA*. En *parC* las mutaciones afectaron a Asp86 o Ser87. Ninguna de las cepas estudiadas presentó mutaciones en *gyrB*. El análisis de los patrones obtenidos por PFGE mostró seis patrones de bandas distintos (tabla 1). Sin embargo, tres de estos perfiles (P1, P2 y P3) presentaban una homología de un 85% entre sí y podrían ser considerados variaciones subcloniales dentro de un mismo genotipo. Estas cepas fueron aisladas de pacientes que habían adquirido la infección en Vizcaya. Dos cepas mostraron un patrón distinto a los anteriores (P4) y fueron adquiridas también en nuestra provincia. Los patrones P5 y P6 correspondieron a dos cepas adquiridas en Rumanía (caso 1) y Almería (caso 2). No se ha encontrado relación entre los patrones de muta-

ciones y los patrones genéticos obtenidos por PFGE.

El alto porcentaje de resistencia a quinolonas en nuestro ámbito, al igual que en el resto de Europa<sup>2</sup>, ha obligado a modificar las recomendaciones para el tratamiento empírico de la infección gonocócica<sup>3,4</sup>. La aparición de NGRQ y su brusco aumento en nuestro hospital (del 64% en la actualidad) nos hizo pensar en que se estuviera expandiendo una variante resistente. El análisis molecular de estas cepas ha mostrado mutaciones conjuntas en *gyrA* y *parC*. Diferentes trabajos han correlacionado el nivel de resistencia de los gonococos a quinolonas y el número y localización de las mutaciones en la QRDR de los genes *gyrA* y *parC*. Generalmente, las mutaciones en *gyrA* son necesarias para el desarrollo de resistencia a fluoroquinolonas, y la presencia simultánea de una o más mutaciones en *parC* aumentan el nivel de resistencia<sup>5-7</sup>. El estudio genético de las cepas por PFGE, junto al estudio epidemiológico, indicó una diversidad en los patrones encontrados. Los perfiles P1, P2 y P3, que podrían ser considerados variaciones subcloniales dentro de un mismo genotipo, sin embargo presentan distintas mutaciones en el QRDR. La caracterización molecular de estos aislamientos muestra una considerable diversidad entre las NGRQ aisladas. Estos resultados parecen indicar que el rápido aumento en la prevalencia de resistencia a fluoroquinolonas en nuestra área no se debe a la expansión endémica de una o dos cepas, sino a la diseminación multiclonal de variantes resistentes de cepas locales e importadas. El escaso número de casos de nuestro trabajo limita la extrapolación de los resultados, pero la caracterización molecular de NGRQ es una importante herramienta para el estudio de los posibles patrones de diseminación. La alta prevalencia de gónococos con resistencia a antibióticos constituye un creciente problema sa-

TABLA 1. Sensibilidad y caracterización molecular de las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes a fluoroquinolonas

| Cepa | Patrón PFGE | CIM ( $\mu\text{g/ml}$ ) |          |       | <i>gyrA</i>  |             | <i>parC</i> |             | <i>parC</i> silente |              |
|------|-------------|--------------------------|----------|-------|--------------|-------------|-------------|-------------|---------------------|--------------|
|      |             | CIP                      | PEN      | TE    | Ser 91 (TCC) | Asp95 (GAC) | Asp86 (GAC) | Ser87 (AGT) | Tyr104 (TAT)        | Leu131 (CTC) |
| 1    | P5          | 16                       | 0,75     | 3     | Phe (TTC)    | Gly (GGC)   | Asn (AAC)   |             |                     | Leu (CTG)    |
| 2    | P6          | 16                       | 0,5      | 2     | Phe (TTC)    | Gly (GGC)   |             | Arg (CGT)   | Tyr (TAC)           | Leu (CTG)    |
| 3    | P4          | > 32                     | 2        | 4     | Phe (TTC)    | Gly (GGC)   | Asn (AAC)   |             |                     | Leu (CTG)    |
| 4    | P1          | 4                        | 0,25     | 1     | Phe (TTC)    | Ala (GCC)   |             |             |                     | Leu (CTG)    |
| 5    | P1          | 16                       | 0,38     | 3     | Phe (TTC)    | Gly (GGC)   | Asn (AAC)   | Asn (AAT)   |                     | Leu (CTG)    |
| 6    | P2          | 8                        | 2        | 1,5   | Phe (TTC)    | Gly (GGC)   |             |             |                     | Leu (CTG)    |
| 7    | P4          | 8                        | 2        | 1     | Phe (TTC)    | Gly (GGC)   |             | Arg (CGT)   | Tyr (TAC)           | Leu (CTG)    |
| 8    | P3          | 16                       | 1        | 2     | Phe (TTC)    | Gly (GGC)   | —           | Arg (CGT)   | Tyr (TAC)           | Leu (CTG)    |
| 9-14 | —           | $\leq 0,004$             | 0,06-0,5 | 0,5-1 | —            | —           | —           | —           | —                   | Leu (CTG)    |

CIM: concentración inhibitoria mínima; CIP: Ciprofloxacino; P1, P2, P3, P4, P5, P6: patrones obtenidos por PFGE tras digestión con *SpeI*; PEN: penicilina; PFGE: electroforesis en gel de campos pulsantes; TE: tetraciclina.

nitario que ha provocado que las opciones de tratamiento se hayan visto limitadas en los últimos años. Se deben recomendar, por lo tanto, otros antibióticos para el tratamiento de las infecciones gonocócicas y continuar con la vigilancia epidemiológica y, en especial, la resistencia a fluoroquinolonas.

*Miriam Alkorta<sup>a</sup>, Elena Urra<sup>a</sup>,  
José Luis Hernández<sup>a</sup>  
y Ramón Bilbao<sup>b</sup>*

<sup>a</sup>Laboratorio de Microbiología.  
<sup>b</sup>Unidad de Investigación. Hospital de Cruces. Baracaldo. Vizcaya. España.

## Bibliografía

1. Tapsall JW. What management is there for gonorrhoea in the postquinolone era? *Sex Transm Dis.* 2006;33:8-10.
2. Martin IMC, Hoffmann S, Ison CA. European Surveillance of Sexually Transmitted Infections (ESSTI): the first combined antimicrobial susceptibility data for *Neisseria gonorrhoeae* in Western Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2006;58:587-93.
3. Clinical effectiveness group, BASHH. National Guideline on the Diagnosis and Treatment of Gonorrhoea in Adults 2005 [actualizado 4 abril 2006]. Disponible en: [http://www.bashh.org/guidelines/2005/gc\\_final\\_0805.pdf](http://www.bashh.org/guidelines/2005/gc_final_0805.pdf)
4. Updated to CDC's Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2006: Fluoroquinolones no longer recommended for treatment of gonococcal infections. *MMWR.* 2007;56:332-6.
5. Deguchi T, Yasuda M, Nakano M, Ozeki S, Ezaki T, Saito I, et al. Quinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*: correlation of alterations in the *gyrA* subunit of DNA gyrase and the *parC* subunit of topoisomerase IV with antimicrobial susceptibility profiles. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:1020-3.
6. Su X, Lind I. Molecular basis of high-level ciprofloxacin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* strains isolated in Denmark from 1995 to 1998. *Antimicrob Agents Chemother.* 2001;45:117-23.
7. Giles JA, Falconio J, Yuenger JD, Zenilman JM, Dan M, Bash MC. Quinolone resistance-determining region mutations and *par* type of *Neisseria gonorrhoeae* isolates: resistance surveillance and typing by molecular methodologies. *J Infect Dis.* 2004;189:2085-93.