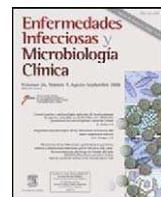


# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

[www.elsevier.es/eimc](http://www.elsevier.es/eimc)



## Original

### Diseminación nosocomial de *Staphylococcus hominis* resistente al linezolid en dos hospitales de Mallorca

Enrique Ruiz de Gopegui<sup>a,\*</sup>, Carmen Iuliana Marinescu<sup>a</sup>, Paz Díaz<sup>b</sup>, Antonia Socías<sup>c</sup>, Margarita Garau<sup>b</sup>, José Ignacio Ayestarán<sup>d</sup>, Antonio Pareja<sup>e</sup>, Mª Carmen Gallegos<sup>b</sup>, José L. Pérez<sup>a</sup> y Antonio Oliver<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca, España

<sup>b</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca, España

<sup>c</sup> Unidad de Cuidados Intensivos, Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca, España

<sup>d</sup> Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Universitari Son Espases, Palma de Mallorca, España

<sup>e</sup> Unidad de Epidemiología y Control de Infecciones, Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca, España

#### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

##### Historia del artículo:

Recibido el 31 de octubre de 2010

Aceptado el 3 de febrero de 2011

On-line el 23 de marzo de 2011

##### Palabras clave:

*Staphylococcus*

Resistencia al linezolid

ARNr 23S

#### R E S U M E N

**Introducción:** A partir del 2008 se detectaron varios aislados de *Staphylococcus hominis* (*S. hominis*) multirresistentes, incluyendo resistencia al linezolid y a la teicoplanina, en pacientes ingresados en dos hospitales de Mallorca. Por ello, se inició un estudio para determinar la epidemiología molecular y el mecanismo de resistencia al linezolid.

**Métodos:** El estudio de epidemiología molecular se realizó mediante electroforesis en campo pulsado (ECP), tras digestión con Apal. Se efectuó amplificación de un fragmento de los genes ARNr 23S (con secuenciación posterior) y *cfr*.

**Resultados:** Desde marzo de 2008 hasta febrero de 2009 se detectaron 15 aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid y a la teicoplanina, procedentes de 14 pacientes. Todos ellos excepto uno habían ingresado en las Unidades de Cuidados Intensivos de alguno de los dos hospitales. La mayoría de los aislados (9) se obtuvieron en hemocultivos. Gran parte de los pacientes infectados (12 de los 15 episodios infecciosos, el 80%) recibieron pautas de linezolid antes de la detección del aislado resistente. La ECP reveló la presencia de un único clon entre los aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid. Se detectó la mutación G2576T en todas las cepas resistentes, mientras que la PCR del gen *cfr* fue negativa en las mismas. Todos los aislados fueron también resistentes a la penicilina, oxacilina, trimetoprim-sulfametoaxazol, ciprofloxacin, levofloxacin y tobramicina; y sensibles a la eritromicina, tetraciclina, gentamicina y daptomicina. La CMI a la vancomicina fue de 4 µg/ml en todos ellos.

**Conclusiones:** La detección de cepas de estafilococos resistentes al linezolid resalta la necesidad de racionalizar el uso del linezolid y mantener un control activo de dicha resistencia con objeto de preservar la utilidad clínica de este antimicrobiano.

© 2010 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Nosocomial spread of linezolid-resistant *Staphylococcus hominis* in two hospitals in Majorca

#### A B S T R A C T

##### Keywords:

*Staphylococcus*

Linezolid resistance

23S rRNA

**Objective:** Since March 2008, several linezolid and teicoplanin-resistant *Staphylococcus hominis* (*S. hominis*) isolates have been recovered from patients admitted to the two major hospitals on the island of Majorca, Spain. For this reason, a study was conducted to determine the molecular epidemiology of these isolates and the mechanism of linezolid resistance.

**Methods:** The molecular epidemiology study was performed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) analysis, after digestion with Apal. Linezolid resistance mechanisms were evaluated by PCR amplification of a fragment of the domain V of the 23S rRNA gene (followed by sequencing) and *cfr* gene.

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [enrique.ruiz@ssib.es](mailto:enrique.ruiz@ssib.es) (E. Ruiz de Gopegui).

**Results:** From March 2008 to February 2009, 15 linezolid and teicoplanin-resistant *S. hominis* isolates were recovered from 14 patients. All of them, except one, were hospitalised in the intensive care units of either of the two institutions. Isolates were obtained mainly from blood cultures (9). The majority of infected patients (12 of 15 infectious episodes, 80.0%) had received courses of linezolid prior to detection of the resistant isolate. PFGE analysis revealed the presence of a unique clone among linezolid resistant *S. hominis* isolates. The G2576T mutation was detected in all the linezolid resistant strains. None of the resistant isolates showed a positive PCR for the *cfr* gene. All of the isolates were also resistant to penicillin, oxacilina, trimethoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin, levofloxacin, and tobramycin; whereas all of them were susceptible to erythromycin, tetracycline, gentamicin, and daptomycin. The MIC of vancomycin was 4 µg/ml for all the strains.

**Conclusions:** The detection of linezolid resistant Staphylococci highlights the need to rationalise the use of linezolid, and maintain an active surveillance of its resistance to preserve the clinical usefulness of this antimicrobial.

© 2010 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

Los estafilococos coagulasa negativa (SCN) se encuentran frecuentemente como residentes ubicuos en la piel y membranas mucosas de personas sanas. Sin embargo, constituyen también la principal causa de bacteriemia y de infecciones relacionadas con catéteres, especialmente en los pacientes ingresados en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI)<sup>1,2</sup>. En España, en dos estudios multicéntricos, entre los aislados clínicamente significativos de SCN, *Staphylococcus hominis* (*S. hominis*) ocupó el segundo lugar en frecuencia tras *Staphylococcus epidermidis*<sup>3,4</sup>.

La mayoría de aislados de SCN son habitualmente resistentes a múltiples antibióticos, incluyendo las penicilinas resistentes a penicilinasa<sup>5</sup>. Por ello, se recomienda el tratamiento empírico con glucopéptidos (vancomicina o teicoplanina) para cubrir las infecciones producidas por estos microorganismos. No obstante, la aparición de cepas de SCN con sensibilidad disminuida a los glucopéptidos (incluyendo aislados resistentes a glucopéptidos), los parámetros farmacocinéticos subóptimos para este grupo antibiótico y la toxicidad limitan su utilidad<sup>6</sup>. Por todo ello se ha considerado la administración de otras familias de antimicrobianos, entre ellas las oxazolidinonas. El mecanismo de acción de las oxazolidinonas se basa en la unión a la subunidad 50S del ribosoma bacteriano (concretamente al dominio V del ARNr 23S), inhibiendo la síntesis proteica<sup>7</sup>. El linezolid es, hasta el momento, la única oxazolidinona aprobada para su uso.

La resistencia al linezolid en SCN es extremadamente rara, aunque incrementándose en los últimos años. En un informe que recoge la resistencia al linezolid en cepas de grampositivos detectadas en el año 2008 (Zyvox® Annual Appraisal of Potency and Spectrum [ZAAPS]), en el que participaron 24 países del mundo, entre 748 aislados de SCN, solamente 3 de ellos (0,4%) fueron resistentes al linezolid<sup>5</sup>. El mecanismo de resistencia al linezolid más frecuentemente detectado en estafilococos se produce por mutaciones en el dominio V del gen ARNr 23S, mayoritariamente la mutación G2576T (según la numeración para *Escherichia coli* [*E. coli*])<sup>5,7-9</sup>. La resistencia al linezolid también puede producirse por mutaciones en las proteínas ribosómicas L3 o L4, y por la presencia del gen *cfr*, que forma parte de un plásmido que puede ser horizontalmente transferido a otros estafilococos<sup>10</sup>.

Desde marzo del 2008, se detectaron los primeros aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid y a la teicoplanina, en dos hospitales terciarios de Mallorca, principalmente a partir de hemocultivos de pacientes hospitalizados en UCI. Este trabajo se llevó a cabo con el fin de investigar el mecanismo de resistencia y la epidemiología molecular de los aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid detectados en los dos hospitales desde marzo de 2008 hasta febrero de 2009.

## Material y métodos

### Hospitales participantes

Este estudio fue llevado entre marzo de 2008 y febrero de 2009 en los dos principales hospitales públicos de la isla de Mallorca, España. El Hospital Son Llàtzer (HSLL) es un hospital terciario con 377 camas. La UCI del HSLL es una unidad médica-quirúrgica con 18 camas. El Hospital Universitario Son Dureta (HUSD) es el hospital terciario de referencia para las Islas Baleares con 740 camas. La UCI del HUSD tiene 30 camas divididas en 5 unidades según enfermedad Coronaria, Médica, Quirúrgico-Traumatológica, Neurocrítica y de Cirugía Cardíaca.

### Identificación bacteriana

Los aislados se identificaron mediante el sistema Vitek® 2 (bioMérieux, Francia) en HSLL o API® ID 32 STAPH (bioMérieux, Francia) en HUSD. Para confirmar la identificación de *S. hominis*, se realizó en una cepa resistente al linezolid una amplificación del gen ARNr 16S usando los cebadores 27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG -3') y 907R (5'-CCG TCA ATT CMT TTR AGT TT -3')<sup>11</sup>. Posteriormente se realizó secuenciación de dicho gen con los cebadores 27F y 519R (5'-GWA TTA CCG CGG CKG CTG -3')<sup>11</sup> y se consultaron las bases de datos del Genbank y del Ribosomal Database Project.

### Pruebas de sensibilidad antimicrobiana

El estudio de sensibilidad inicial se realizó con la tarjeta Vitek® 559 (HSLL) o por disco-difusión (HUSD), según las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)<sup>12</sup>. Posteriormente, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid mediante tiras de E-test® (bioMérieux, Francia), para los siguientes antimicrobianos: linezolid, oxacilina, vancomicina, teicoplanina, ciprofloxacin, eritromicina, clindamicina, trimetoprim-sulfametoaxazol (cotrimoxazol), y daptomicina. Se consideraron los puntos de corte definidos por el CLSI<sup>12</sup>.

### Detección de mutaciones en ARNr 23S

Para identificar las posibles mutaciones, amplificamos el dominio V del gen ARNr 23S en tres aislados de *S. hominis* sensibles al linezolid (todos fueron detectados en hemocultivos, uno del HSLL y dos del HUSD), y en cinco aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid (tres del HSLL y dos del HUSD). Se usaron los cebadores 5'-TGG GCA CTG TCT CAA CGA-3' (correspondientes a las bases 1984-2001 del ARNr 23S de *E. coli*) y 5'-GGA TAG GGA CCG AAC TGT CTC-3' (correspondientes a las bases 2597-2617 del ARNr 23S de *E. coli*) para amplificar un fragmento de 634 pb<sup>8</sup>. Los productos de PCR

fueron secuenciados y alineados con las correspondientes secuencias de oligonucleótidos de la cepa de referencia de *Staphylococcus aureus* (número de acceso en GenBank X68425).

#### Detección del gen *cfr*

Se realizó una PCR para detectar la presencia del gen *cfr*, según las condiciones descritas por Kehrenberg<sup>13</sup>. Como control positivo para esta PCR, se usó una cepa de *S. aureus* resistente al linezolid y a la meticilina procedente del Hospital Clínico San Carlos, Madrid<sup>14</sup>.

#### Estudios de epidemiología molecular

La relación clonal de los aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid se determinó mediante electroforesis en campo pulsado (ECP). En cada ECP, se incluyeron algunos aislados de *S. hominis* sensibles al linezolid. Al principio del estudio, se usó *Sma*I como enzima de restricción, pero sólo se visualizaron 3-5 bandas para cada cepa. Luego, en una segunda fase, se empleó la enzima de restricción *Apa*I, según el protocolo descrito por Sorlozano y Vinde<sup>15</sup>. Los fragmentos de ADN cromosómicos se separaron usando el sistema Chef-DR III® (Bio-Rad, Richmond, EE.UU.), con las siguientes condiciones: pulso inicial 0,1 s, pulso final 30 s, tiempo 24 h a 6 V/cm. Los patrones de bandas de la ECP se interpretaron según los criterios de Tenover<sup>16</sup>.

#### Resultados

Durante el periodo del estudio (marzo 2008-febrero 2009), se identificaron en los dos hospitales un total de 15 aislados clínicos de *S. hominis* subsp. *hominis* resistentes al linezolid en 14 pacientes distintos (**tabla 1**). Un paciente tuvo dos hemocultivos positivos a este microorganismo (con el mismo antibiograma) en dos ingresos diferentes separados por 100 días. De los 15 aislados, 12 se detectaron en pacientes ingresados en el HSLL (11 de ellos en la UCI) y los otros 3 en el HUSD (todos ellos en la Subunidad Quirúrgica-Traumatológica de la UCI). La evolución en los 15 episodios infecciosos fue buena en 12 de ellos, otros 2 pacientes fallecieron por causas no relacionadas, mientras que el paciente restante desarrolló una bacteriemia con infección del cable de marcapasos por este microorganismo, falleciendo a los pocos días (**tabla 1**).

Los aislados se obtuvieron principalmente de hemocultivos (9), seguido de catéteres (2), y líquidos estériles (2). Además, se llevó a cabo un estudio de colonización (nasal, axilar, e inguinal) en los últimos tres pacientes ingresados en HSLL. Todos ellos tuvieron colonización axilar e inguinal por *S. hominis* multirresistente, con el mismo antibiotipo que su cepa clínica correspondiente.

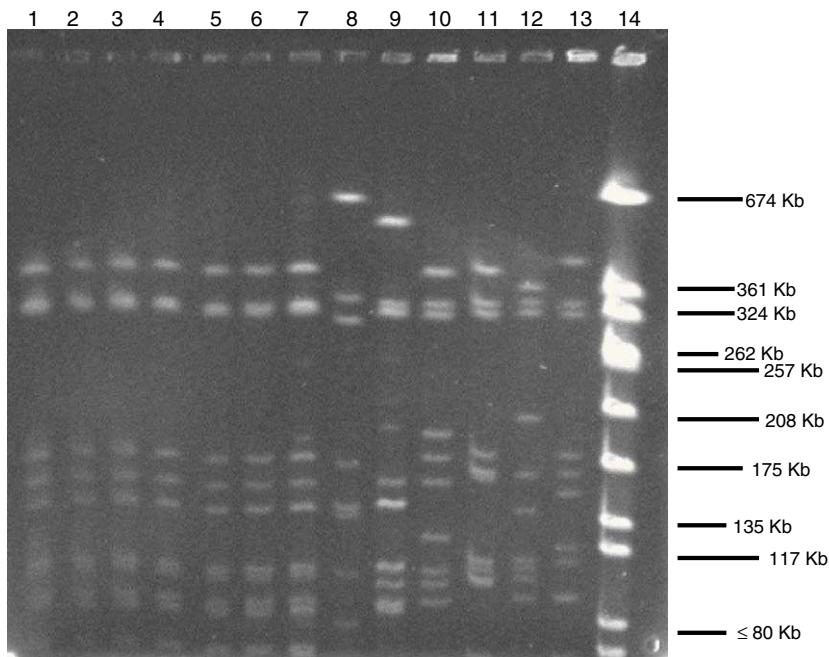
La secuenciación del gen ARNr 16S confirmó la identificación de *S. hominis* subsp. *hominis*. Todos estos aislados fueron resistentes a la penicilina, oxacilina (CMI > 256 µg/ml), teicoplanina (CMI > 256 µg/ml), trimetoprim-sulfametoazol (CMI > 32 µg/ml), ciprofloxacino (CMI > 32 µg/ml), levofloxacino, tobramicina y linezolid (CMI ≥ 96 µg/ml). Todos estos aislados fueron sensibles a la eritromicina, tetraciclina, gentamicina y daptomicina. La CMI de la daptomicina fue de 0,25 µg/ml en todos ellos. Respecto a la vancomicina, todas las cepas presentaron una CMI de 4 µg/ml, todavía sensibles según las recomendaciones del CLSI<sup>12</sup> (S ≤ 4 µg/ml, I 8-16 µg/ml, R > 32 µg/ml) pero resistentes según los criterios del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) de enero de 2011<sup>17</sup> (S ≤ 2 µg/ml, R > 2 µg/ml).

En relación con la clindamicina, casi todos los aislados tuvieron una sensibilidad intermedia a este antibiótico (CMI = 0,75 µg/ml), excepto en dos aislados. Uno de ellos fue sensible (CMI = 0,5 µg/ml) y el otro resistente a la clindamicina (CMI = 4 µg/ml). Todas las

**Tabla 1**  
Características de los pacientes con *Staphylococcus hominis* resistente al linezolid

Paciente	Hospital	Muestra	Fecha de aislamiento	Sexo	Días de tratamiento con linezolid previos al aislamiento	Tratamiento previo con glucopéptidos	Probable origen contaminante	Tratamiento dirigido	Evolución
1	HSLL	Hemocultivo	29/03/2008	F	16	No	Sí	No	Muerte no relacionada
2	HSLL	Hemocultivo	22/05/2008	F	10	Vancomicina No	Vancomicina	Buena	Buena
3	HSLL	Hemocultivo	06/08/2008	F	0	Vancomicina No	Vancomicina	Buena	Buena
4	HSLL	Hemocultivo	19/08/2008	M	9	Vancomicina No	Vancomicina	Muerte relacionada	Muerte relacionada
5	HSLL	Hemocultivo, cable marcapasos	01/09/2008	F	6	No	Vancomicina	Vancomicina	Buena
6	HSLL	Hemocultivo	01/10/2008	M	0	No	Vancomicina No	Vancomicina	Buena
6	HSLL	Hemocultivo	21/01/2009	M	4	Vancomicina No	Vancomicina	Sí	Muerte no relacionada
7	HUSD	LCR	11/11/2008	F	19	Vancomicina	Vancomicina	No	Buena
8	HUSD	Catéter	16/11/2008	M	17	No	Sí	Vancomicina	Buena
9	HSLL	Hemocultivo	17/12/2008	M	3	No	No	No	Buena
10	HSLL	Líquido sinovial	28/01/2009	F	42	No	No	Sí	Buena
11	HSLL	Exudado herida	06/02/2009	M	1	No	No	No	Buena
12	HSLL	Hemocultivo	13/02/2009	M	0	No	No	Sí	Buena
13	HSLL	BAS	23/02/2009	F	11	Vancomicina	No	No	Buena
14	HUSD	Catéter	26/02/2009	M	11	No	No	No	Tigecíclica Tigecíclica

HSLL: Hospital Son Llàtzer; HUSD: Hospital Universitario Son Dureta; LCR: líquido cefalorraquídeo; BAS: aspirado bronquiolar.



**Figura 1.** Electroforesis en campo pulsado de trece aislados de *Staphylococcus hominis* utilizando *Apal* como enzima de restricción. Líneas 1-6: aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid del Hospital Son Llàtzer (HSLL). Línea 7: aislado de *S. hominis* resistente al linezolid del Hospital Universitario Son Dureta (HUSD). Línea 8: aislado de *S. hominis* sensible al linezolid del HUSD. Líneas 9-13: aislados de *S. hominis* sensibles al linezolid del HSLL. Línea 14: cepa de referencia de *Staphylococcus aureus* NCTC 8325.

cepas fueron sensibles a la rifampicina, excepto una que fue intermedia.

Los cinco aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid secuenciados tuvieron la mutación G2576T (según numeración de *E. coli*) en el dominio V del gen ARNr 23S, mientras que ninguno de los tres aislados de *S. hominis* sensibles al linezolid secuenciados presentaron dicha mutación. En comparación con la secuencia del dominio V del gen ARNr 23S de la cepa control de *S. aureus* (número acceso GenBank X68425), nosotros también encontramos en todos los ocho aislados de *S. hominis* (tanto sensibles como resistentes al linezolid) la sustitución C2163T. Por ello, consideramos que esta sustitución es un polimorfismo de especie. No se detectó el gen *cfr* en ninguno de los aislados de *S. hominis*.

La ECP, tras digestión con *Sma*I, mostró que todos los aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid tenían el mismo patrón electroforético, aunque mostraron sólo tres bandas, mientras que los aislados sensibles tuvieron 3-4 bandas en diferentes posiciones. La ECP usando *Apal* como enzima de restricción mostró que todos los aislados resistentes al linezolid pertenecían al mismo clon, mientras que todos los aislados de *S. hominis* sensibles pertenecían a diferentes clones (fig. 1).

## Discusión

El linezolid fue aprobado para uso clínico en Estados Unidos en el año 2000 y en Europa en el 2001, con una excelente actividad contra la mayoría de los cocos grampositivos<sup>7</sup>. No se encontraron aislados de cocos grampositivos resistentes al linezolid antes de su aprobación y además, la resistencia por mutación es difícil de seleccionar *in vitro*<sup>18</sup>. No obstante, en el año 2001, un año después de su comercialización, se detectó en Boston, EE.UU., el primer aislado clínico de estafilococo resistente al linezolid. Este primer caso estaba producido por una cepa de *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) con la mutación G2576T en el gen ARNr 23S, que se había detectado en un paciente que había recibido diálisis peritoneal en tratamiento previo con linezolid<sup>8</sup>. El primer SCN resistente al linezolid publicado fue una cepa de *S. epidermidis* detectada en EE.UU. en el 2002, también con la misma mutación<sup>19</sup>. Los primeros dos

brotes descritos de estafilococos resistentes al linezolid ocurrieron en el 2005, uno de ellos en Pittsburgh, EE.UU.<sup>20</sup>, y el otro en Dublín, Irlanda<sup>21</sup>; ambos producidos por dos cepas de *S. epidermidis*. El mecanismo de resistencia al linezolid en los aislados de *S. epidermidis* del hospital americano no es conocido, pero todas las cepas resistentes del hospital irlandés contenían la mutación G2576T. En España, se han descrito varios brotes de SCN resistentes al linezolid con la mutación G2576T en aislados de *S. epidermidis*<sup>22</sup>, *Staphylococcus haemolyticus*<sup>23</sup> y *S. hominis*<sup>15</sup>. Por lo que respecta al gen *cfr*, la primera cepa de *S. aureus* detectada en humanos con dicho gen ocurrió en 2005 en Colombia<sup>24</sup>, mientras que el primer SCN con el gen *cfr* se aisló en 2007 en EE.UU. en una cepa de *S. epidermidis*<sup>25</sup>. Asimismo, en 2008 se detectó el primer brote de SARM con el gen *cfr* en el Hospital Clínico San Carlos, Madrid<sup>14</sup>.

En marzo de 2008, se detectó la primera cepa de *S. hominis* resistente al linezolid en Mallorca, en una paciente ingresada en la UCI del HSLL, que comenzó tratamiento con linezolid 16 días antes del aislamiento de la cepa resistente. El segundo aislado se observó en mayo 2008, en otra paciente de la misma UCI también tratada con linezolid. Pero, en agosto del 2008, a pesar de las medidas de control implantadas (aislamiento de los pacientes infectados y administración de un tratamiento antibiótico efectivo) se estableció en la UCI del HSLL una situación endémica, que persiste actualmente. Además, en enero de 2009, se detectó en el HSLL el primer paciente infectado por esta cepa hospitalizado fuera de la UCI. En el HUSD, los aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid se detectaron por primera vez en dos pacientes ingresados en la UCI de este hospital en noviembre del 2008. Posteriormente, se aisló de nuevo en febrero del 2009 también en una paciente ingresada en la UCI.

De modo similar al primer brote descrito de *S. hominis* resistente al linezolid en Granada, España<sup>15</sup>, en la mayoría de nuestros pacientes, este microorganismo se aisló solamente en un vial de hemocultivo de un total de cuatro, por lo que podría considerarse como un contaminante de los hemocultivos. Pero, en algunos casos, detectamos *S. hominis* resistente al linezolid en líquidos corporales, aspirados bronquiales, o simultáneamente en catéter y hemoculturivos. Llama la atención que algunos de los pacientes infectados tenían además una colonización axilar e inguinal por la misma cepa,

pero no colonización nasal. Esto está en concordancia con el trabajo de Center et al en el que encontraron, en neonatos, una mayor detección de aislados de *Staphylococcus warneri* con sensibilidad disminuida a la vancomicina en muestras cutáneas y de heces (32 aislados en 39 muestras) que en nasofaringe (7 de 39)<sup>26</sup>.

Nosotros encontramos la mutación G2576T en el gen ARNr 23S en todos los cinco aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid que secuenciamos. La aparición de la resistencia al linezolid se desarrolla en un proceso de dos pasos: inicialmente tiene lugar una mutación en la posición 2576 de una de las copias del gen ARNr 23S (los estafilococos poseen cinco o seis copias de este gen), seguida de una recombinación intracromosómica (conversión de genes), en la que se distribuye dicha mutación a las otras copias de los genes, confiriendo resistencia al linezolid<sup>9</sup>. Los aislados de estafilococos con un mayor número de copias mutadas del gen ARNr 23S suelen tener unos valores de la CMI del linezolid más altos<sup>27</sup>.

Los mecanismos de resistencia al linezolid en *S. hominis* se caracterizaron por primera vez en los aislados del brote de Granada<sup>15</sup>. Ese trabajo describió la presencia de dos «nuevas mutaciones» simultáneamente en aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid: C2190T y G2603T. Sin embargo, ellos no usaron la numeración de *E. coli* para las mutaciones, sino la numeración de la cepa de referencia de *S. aureus* X68425. De hecho, su mutación G2603T corresponde realmente a la clásica G2576T, como encontramos en nuestro estudio. Además, en el estudio de Granada no secuenciaron aislados de *S. hominis* sensibles al linezolid, con lo que la mutación C2190T que encontraron en los aislados resistentes (C2163T con la numeración de *E. coli*) es de hecho un polimorfismo de la especie *S. hominis*, también presente uniformemente en los aislados sensibles al linezolid de esta especie. No se ha estudiado específicamente si este polimorfismo C2163T confiere alguna ventaja a *S. hominis* en relación a otras especies de SCN, si bien, al detectarse la resistencia al linezolid en diferentes especies de estafilococos sin este polimorfismo, es probable que éste no juegue ningún papel en la resistencia al linezolid. Recientemente, se ha publicado la detección de la mutación G2576T en cinco aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid en pacientes ingresados en la UCI de dos hospitales de Sicilia<sup>28</sup>.

Dos aspectos adicionales no quedan claros en nuestro brote. Uno de ellos es la diseminación de la cepa desde la UCI del HSLL a la UCI del HUSD. En 2008, no se produjo ninguna transferencia de pacientes entre las UCI de ambos hospitales y tampoco hubo ningún traslado de instrumental entre ellas. No obstante, dos enfermeras estaban trabajando en las dos UCI al mismo tiempo, aunque no se realizó estudio de colonización del personal sanitario. De modo similar, se desconocen los factores responsables de la persistencia de la cepa en la UCI del HSLL, produciendo 1-2 infecciones cada mes. La cepa podría transmitirse de paciente a paciente a través de las manos del personal sanitario colonizado<sup>29</sup>, o bien, podría haber un reservorio en el ambiente de la UCI. En el brote irlandés de *S. epidermidis* resistente al linezolid, los autores encontraron la misma cepa resistente en las cercanías de los pacientes colonizados y en un ordenador usado por el personal de la UCI<sup>21</sup>.

Una larga duración del tratamiento con linezolid, una dosificación insuficiente, y la administración repetida del linezolid son factores de riesgo para desarrollar resistencia a este antimicrobiano<sup>30</sup>. La resistencia al linezolid no sólo se ha observado en pacientes con un tratamiento prolongado a dicho antimicrobiano, sino también en casos sin exposición obvia<sup>20-23</sup>. En nuestra serie, la mayoría de pacientes infectados (12 de 15 episodios infecciosos, el 80%) habían recibido ciclos de linezolid antes de la detección del aislado resistente. Con todo, 3 pacientes (20,0%) no recibieron linezolid, lo que sugiere la adquisición por transmisión cruzada<sup>21,23</sup>.

Todos los aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid fueron también resistentes a la teicoplanina y tuvieron por E-test CMI a la vancomicina de 4,0 µg/ml. En el momento actual, 4,0 µg/ml

es el límite superior del rango de sensibilidad según el CLSI<sup>12</sup>, y resistente según el EUCAST<sup>17</sup>. Este perfil de resistencia a glucopéptidos está también presente en aislados resistentes al linezolid de *S. epidermidis*<sup>20</sup>, *S. haemolyticus*<sup>23</sup> y *S. hominis*<sup>15,28</sup>, todos ellas con la mutación G2576T. La relación entre esta mutación en el gen ARNr 23S y la resistencia a los glucopéptidos es desconocida. La resistencia a los glucopéptidos en *Staphylococcus* spp. es multifactorial<sup>31</sup>, siendo el engrosamiento de la pared celular una característica común<sup>32</sup>.

La incidencia creciente de infecciones causadas por aislados de estafilococos multirresistentes, incluyendo resistencia a la teicoplanina y al linezolid, es preocupante. Es crucial hacer un uso racional del linezolid y mantener un control activo de dicha resistencia para preservar la utilidad clínica de este antimicrobiano.

## Financiación

Este trabajo ha sido parcialmente sufragado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España, Instituto de Salud Carlos III, a través de la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI C03/14 y RD06/0008).

## Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Carmen Vidal de la Unidad de Secuenciación del HUSD (ahora Son Espases) su ayuda con los experimentos de las diferentes secuencias, y a la Dra. Carmen Betriu y la Dra. Gracia Morales del Hospital Clínico San Carlos, Madrid, el envío de una cepa de *S. aureus* positiva para el gen cfr.

## Bibliografía

- Rogers KL, Fey PD, Rupp ME. Coagulase-negative staphylococcal infections. Infect Dis Clin North Am. 2009;23:73-98.
- Mermel LA, Allon M, Bouza E, Craven DE, Flynn P, O'Grady NP, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of intravascular catheter-related infection: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2009;49:1-45.
- Cuevas O, Cercenado E, Goyanes MJ, Vindel A, Trincado P, Boquete T, et al. *Staphylococcus* spp. en España: situación actual y evolución de la resistencia a antimicrobianos (1986-2006). Enferm Infect Microbiol Clin. 2008;26:269-77.
- Picazo JJ, Betriu C, Rodríguez-Avial I, Culebras E, López F, Gómez M, Grupo VIRA. Actividad comparativa de la daptomicina frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina y frente a estafilococos coagulasa negativa. Enferm Infect Microbiol Clin. 2010;28:13-6.
- Jones RN, Ross JE, Bell JM, Utsuki U, Fumiaki I, Kobayashi I, et al. Zyvox Annual Appraisal of Potency and Spectrum program: linezolid surveillance program results for 2008. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009;65:404-13.
- Gould IM. Clinical relevance of increasing glycopeptide CMIs against *Staphylococcus aureus*. Int J Antimicrob Agents. 2008;31 Suppl 2:1-9.
- Livermore DM. Linezolid *in vitro*: mechanism and antibacterial spectrum. J Antimicrob Chemother. 2003;51 Suppl 2:9-16.
- 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.
- Woodford N, Livermore DM. Infections caused by Gram-positive bacteria: a review of the global challenge. J Infect. 2009;59 Suppl 1:4-16.
- Long KS, Poehlsgaard J, Kehrenberg C, Schwarz S, Vester B. The Cfr rRNA methyltransferase confers resistance to Phenolics, Lincosamides, Oxazolidinones, Pleuromutilins, and Streptogramin A antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50:2500-5.
- Lane DJ. 16S/23S rRNA sequencing. En: Stackebrandt E, Goodfellow M, editors. *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. Chichester: Wiley; 1991. p. 115-75.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 19th informational supplement. M100-S19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pennsylvania: CLSI document; 2009.
- Kehrenberg C, Schwarz S. Distribution of florfenicol resistance genes *fexA* and *cfr* among chloramphenicol-resistant *Staphylococcus* isolates. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50:1156-63.

14. Morales G, Picazo JJ, Baos E, Candel FJ, Arribi A, Peláez B, et al. Resistance to linezolid is mediated by the *cfr* gene in the first report of an outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2010;50:821-5.
15. Sorlozano A, Gutiérrez J, Martínez T, Yuste ME, Pérez-López JA, Vindel A, et al. Detection of new mutations conferring resistance to linezolid in glycopeptide-intermediate susceptibility *Staphylococcus hominis* subspecies *hominis* circulating in an intensive care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2010;29:73-80.
16. Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, CMIkelsen PA, Murray BE, 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.
17. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1.3, January 5, 2011. Disponible en: <http://www.eucast.org/clinical.breakpoints>.
18. Zurenko GE, Yagi BH, Schaadt RD, Allison JW, Kilburn JO, Glickman SE, et al. *In vitro* activities of U-100592 and U-100766, novel oxazolidinone antibacterial agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1996;40:839-45.
19. Mutnick AH, Enne V, Jones RN. Linezolid resistance since 2001: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Ann Pharmacother.* 2003;37:769-74.
20. Potoski BA, Adams J, Clarke L, Shutt K, Linden PK, Baxter C, et al. Epidemiological profile of linezolid-resistant coagulase-negative staphylococci. *Clin Infect Dis.* 2006;43:165-71.
21. Kelly S, Collins J, Maguire M, Gowing C, Flanagan M, Donnelly M, et al. An outbreak of colonization with linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in an intensive therapy unit. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61:901-7.
22. Treviño M, Martínez-Lamas L, Romero-Jung PA, Giráldez JM, Álvarez-Escudero J, Regueiro BJ. Endemic linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in a critical care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009;28:527-33.
23. Rodríguez-Aranda A, Daskalaki M, Villar J, Sanz F, Otero JR, Chaves F. Nosocomial spread of linezolid-resistant *Staphylococcus haemolyticus* infections in an intensive care unit. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2009;63:398-402.
24. Toh SM, Xiong L, Arias CA, Villegas MV, Lolans K, Quinn J, et al. Acquisition of a natural resistance gene renders a clinical strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to the synthetic antibiotic linezolid. *Mol Microbiol.* 2007;64:1506-14.
25. Mendes RE, Deshpande LM, Castanheira M, DiPersio J, Saubolle MA, Jones RN. First report of *cfr*-mediated resistance to linezolid in human staphylococcal clinical isolates recovered in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52:2244-6.
26. Center KJ, Reboli AC, Hubler R, Rodgers GL, Long SS. Decreased vancomycin susceptibility of coagulase-negative staphylococci in a neonatal intensive care unit: evidence of spread of *Staphylococcus warneri*. *J Clin Microbiol.* 2003;41:4660-5.
27. Zhu W, Tenover FC, Limor J, Lonsway D, Prince D, Dunne Jr WM, et al. Use of pyrosequencing to identify point mutations in domain V of 23S rRNA genes of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007;26:161-5.
28. Bongiorno D, Campanile F, Mongelli G, Baldi MT, Provenzani R, Reali S, et al. DNA methylase modifications and other linezolid resistance mutations in coagulase-negative staphylococci in Italy. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65:2336-40.
29. Christensen GD, Bisno AL, Parisi JT, McLaughlin B, Hester MG, Luther RW. Nosocomial septicemia due to multiply antibiotic-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Ann Intern Med.* 1982;96:1-10.
30. Yoshida K, Shoji H, Hanaki H, Yanagisawa C, Ikeda-Dantsuji Y, Fukuchi K, et al. Linezolid-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated after long-term, repeated use of linezolid. *J Infect Chemother.* 2009;15: 417-9.
31. Besier S, Ludwig A, Zander J, Brade V, Wichelhaus TA. Peptidoglycan synthesis and structure in *Staphylococcus haemolyticus* expressing increasing levels of resistance to glycopeptide antibiotics. *J Bacteriol.* 1996;178:4696-703.
32. Cui L, Lian JQ, Neoh HM, Reyes E, Hiramatsu K. DNA microarray-based identification of genes associated with glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:3404-13.