



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

Susceptibilidad antibiótica y caracterización genotípica de aislados de *Neisseria gonorrhoeae* circulantes en la Comunidad Valenciana (España): proyecto GONOvig



Aleix Borja Fabregat Bolufer^{a,*}, Felipe Bueno Ferrando^b, David Navarro Ortega^b y Javier Colomina Rodríguez^b

^a Hospital Universitario de Bellvitge, Barcelona, España

^b Hospital Clínico Universitario de Valencia, Valencia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 23 de mayo de 2022

Aceptado el 1 de agosto de 2022

On-line el 25 de octubre de 2022

Palabras clave:

Neisseria gonorrhoeae

Resistencia antibiótica

Bacteriano

Caracterización molecular

RESUMEN

Introducción: El aumento de las infecciones de transmisión sexual (ITS) producidas por *Neisseria gonorrhoeae* (NG) a nivel mundial, junto con la disminución de la susceptibilidad antibiótica, obliga a profundizar en la epidemiología de la infección gonocócica (IG).

Métodos: El proyecto GONOvig analizó, comparativamente siguiendo criterios CLSI y EUCAST, la susceptibilidad antibiótica de 227 cepas de NG recogidas en trece hospitales representativos de la Comunidad Valenciana (CV) entre los años 2013 y 2018. Adicionalmente, se pudo realizar la tipificación molecular de 175 cepas mediante la técnica NG multi-antigen sequence typing (NG-MAST).

Resultados: Se detectaron elevadas tasas de resistencia a tetraciclina (38,2% por CLSI y 50,9% por EUCAST) y ciprofloxacino (49,1% CLSI y 54% EUCAST), y bajos porcentajes de resistencia a espectinomicina (0%), cefixima (0,5% CLSI pero 5,9% EUCAST) y ceftriaxona (1,5% CLSI y 2,4% EUCAST). La resistencia a azitromicina fue de 6% (tanto CLSI como EUCAST). El análisis molecular reveló la presencia de 86 secuenciottipos (ST) distintos, destacando el ST2992 (7,4%), ST3378 (6,9%), ST2400 (4,6%) y ST13288 (6,9%) el cual presentaba asociación con resistencia a cefixima ($p = 0,031$). Los genogrupos (G) mayoritarios fueron el G1407 (13,1%), G2992 (10,3%), G2400 (6,3%) y G387 (3,4%); G1407 y G2400 mostraron asociación con resistencia a ciprofloxacino ($p < 0,03$).

Conclusión: Se ha detectado una baja resistencia a ceftriaxona, una preocupante resistencia a azitromicina y una gran variedad de ST circulantes, algunos de los cuales presentan correlación con determinados perfiles de resistencia.

© 2022 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Antibiotic susceptibility and genotypic characterization of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in the Comunidad Valenciana (Spain): GONOvig project

ABSTRACT

Keywords:

Neisseria gonorrhoeae

Drug resistance

Bacterial

Molecular typing

Introduction: The increase in sexually transmitted infections (STI) caused by *Neisseria gonorrhoeae* (NG) worldwide, together with the decrease in antibiotic susceptibility, forced us to understand the epidemiology of gonococcal infection.

Methods: The GONOvig project analyzed, comparatively following CLSI and EUCAST criteria, the antibiotic susceptibility of 227 NG strains collected in thirteen representative hospitals of the Valencia Community (CV) between 2013 and 2018. Additionally, molecular typing of 175 strains using the NG multi-antigen sequence typing technique (NG-MAST) was performed.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: aleixborja1987@gmail.com (A.B. Fabregat Bolufer).

Results: High rates of resistance to tetracycline (38.2% by CLSI and 50.9% by EUCAST) and ciprofloxacin (49.1% CLSI and 54% EUCAST), and low percentages of resistance to spectinomycin (0%), cefixime (0.5% CLSI but 5.9% EUCAST), and ceftriaxone (1.5% CLSI and 2.4% EUCAST) were detected. Azithromycin resistance was 6% (both CLSI and EUCAST). Molecular analysis revealed the presence of 86 different sequence types (ST), highlighting ST2992 (7.4%), ST3378 (6.9%), ST2400 (4.6%) and ST13288 (6.9%), which was associated with resistance to cefixime ($p = 0.031$). The main genogroups (G) were G1407 (13.1%), G2992 (10.3%), G2400 (6.3%) and G387 (3.4%). G1407 and G2400 were associated with resistance to ciprofloxacin ($p < 0.03$).

Conclusión: Low resistance to ceftriaxone, a worrying resistance to azithromycin and a wide variety of circulating sequence types have been detected, some of which show correlation with certain resistance profiles.

© 2022 Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Las infecciones causadas por *Neisseria gonorrhoeae* (NG) suponen un grave problema de salud pública¹. A nivel europeo, los datos reportados por el European Centre for Disease and Control (ECDC) indican una marcada y progresiva incidencia². El rápido diagnóstico y tratamiento adecuado, junto con medidas preventivas y educativas, constituyen factores fundamentales en el control de la infección gonocócica (IG). A partir del año 2012, las principales sociedades científicas recomendaron el tratamiento empírico dual de la gonorrea combinando una cefalosporina de tercera generación –generalmente ceftriaxona– junto con un macrólido de segunda generación, la azitromicina. La aparición en el año 2018 de la primera cepa resistente a dicha pauta junto con el cambio en los patrones de susceptibilidad a antimicrobianos ha condicionado la reevaluación de dicho régimen terapéutico^{3–5}.

La epidemiología molecular constituye una herramienta imprescindible para conocer la dinámica poblacional⁶, ya que permite establecer relaciones entre los patrones locales de susceptibilidad antibiótica y las cepas circulantes⁷, resultando de gran utilidad en la identificación de cepas con alta resistencia y su posible diseminación entre la población⁸. El constante aumento de los casos de IG a nivel mundial, la ausencia de vacunas efectivas y la emergencia de cepas resistentes a una gran variedad de potenciales opciones terapéuticas (recientemente la Organización Mundial de la Salud [OMS] la ha clasificado como superbacteria⁹), acentúa la necesidad de implementar programas de vigilancia y control de la infección.

El objetivo principal del proyecto denominado GONOvig fue analizar la sensibilidad antibiótica de cepas de NG aisladas en muestras genitales de pacientes de la Comunidad Valenciana (CV), así como llevar a cabo la tipificación molecular de los aislados con el fin de detectar los clusters epidemiológicos presentes y su posible asociación con los perfiles de resistencia detectados.

Métodos

Aislados de NG

Se realizó un estudio prospectivo y multicéntrico en el que se analizaron 227 cepas de NG obtenidas, mediante toma uretral o endocervical, de pacientes atendidos en trece hospitales representativos de la CV durante enero-2013 y diciembre-2018. Con el objeto de disponer de cierta representación geográfica, se requirió un mínimo de cinco aislados por cada centro participante, correspondiendo una única cepa por paciente y episodio. No entraron a estudio muestras consideradas de colonización (exudados faríngeos o anales) debido a la menor prevalencia de NG en estos especímenes biológicos. Asistencialmente, cada centro participante identificó y realizó el estudio de sensibilidad antibiótica de los

aislados mediante métodos disponibles en su laboratorio. Posteriormente, dichos centros enviaron al Hospital Universitario de La Ribera (HULR) el hisopo original y cultivo primario, a temperatura de refrigeración (2–8°C) y en un tiempo menor de 24–48 horas desde la identificación del aislado, junto con datos demográficos del paciente y el estudio de sensibilidad antibiótica realizado en origen. El HULR, centro referente, reseñó los aislados en agar chocolate y medio selectivo Thayer-Martin (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France), y los aislados fueron nuevamente reidentificados atendiendo a la morfología de las colonias, resultado positivo en las pruebas de oxidasa y catalasa, y un elevado grado de fiabilidad (> 95%) en la galería bioquímica utilizando el sistema Vitek-2¹⁰ (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France).

Estudios de susceptibilidad antibiótica

Los aislados recolectados durante el proyecto GONOvig se analizaron siguiendo indicaciones internacionales del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)¹¹ y European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST)¹². Se utilizaron tiras Etest (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, France) y se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), en agar GC supplementado con 1% isovitalex (BD, New Jersey, Estados Unidos) e incubación 20–24 horas en estufa a 37°C con 5% de CO₂, frente a los siguientes antibióticos: penicilina, cefixima, ceftriaxona, azitromicina, ciprofloxacino, espectinomicina y tetraciclina. Como control de calidad se utilizó la cepa de NG ATCC 49226.

Para minimizar las posibles discrepancias en la lectura de las elipses de inhibición, el valor de CMI fue determinado por dos especialistas. La interpretación se realizó, comparativamente, según criterios CLSI y EUCAST. Adicionalmente, se calculó la CMI capaz de inhibir a 50% (CMI₅₀) y 90% (CMI₉₀) de los aislados. Se estudió la producción de β-lactamasa (PPNG) utilizando la prueba de cefinasa (BD, New Jersey, Estados Unidos).

Tipificación molecular

La caracterización molecular se centralizó en la Fundación para el Fomento de la Investigación Sanitaria y Biomédica de la Comunidad Valenciana (FISABIO). Se utilizó la técnica NG multi-antigen sequence typing (NG-MAST), basada en la secuenciación de fragmentos internos de los genes hipervariables *porB* y *tbpB*, los cuales codifican para una porina y una transferrina de la membrana externa de NG. Se utilizó el sistema QIAamp® DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemania). La amplificación de las secuencias alélicas se realizó según protocolo ya descrito¹³, utilizando termociclador Mastercycler® (Eppendorf, Hamburg, Alemania), reactivos Master Mix (Biotoools, Madrid, España) y primers específicos (Metabion, Munich, Alemania). Las secuencias alélicas obtenidas fueron introducidas en la base de datos (www.ng-mast.net) y los secuenciotipos

Tabla 1

Porcentajes de sensibilidad a diversos antibióticos en aislados de *Neisseria gonorrhoeae*: comparativa según criterios CLSI y EUCAST

Antibiótico	CLSI (%)	EUCAST (%)	CMI ₅₀ (mg/L)	CMI ₉₀ (mg/L)
Azitromicina	94	94	0,25	1
Penicilina	88,4	83,8	0,38	1,5
Cefixima	99,5	88	0,016	0,125
Ceftriaxona	98,5	97,6	0,016	0,047
Ciprofloxacino	50,9	46	1	16
Espectinomicina	100	100	-	-
Tetraciclina	61,8	49,1	0,75	6

(ST) resultantes fueron registrados. A su vez, los ST obtenidos se agruparon en asociaciones mayores, denominadas genogrupos (G), atendiendo a similitudes alélicas¹⁴. Para ello, se alinearon las secuencias y se establecieron asociaciones mediante el programa MEGA (<https://www.megasoftware.net>).

Análisis estadístico de los datos

Las variables cuantitativas se representaron como media y desviación estándar. Se utilizó la prueba de Anderson-Darling para verificar la normalidad de la distribución de las variables cuantitativas, considerándose como estadísticamente significativo, con un nivel de confianza de 95%, cuando $p < 0,05$. Para establecer relaciones entre variables cualitativas, como la sensibilidad antibiótica y los ST/genogrupos, se realizaron tablas de contingencia y la prueba exacta de Fisher. Los cálculos estadísticos se desarrollaron con el programa SPSS Statistics 23 (IBM, Armonk, Estados Unidos).

Resultados

De las cepas, 100% fueron reidentificadas como NG en el centro que actuó como de referencia. De los 227 aislados analizados, el 70% procedían de hospitales de Valencia, 15% de Alicante y 15% de Castellón. Por sexos, 216 de los aislados fueron obtenidos en hombres (94%) y 11 en mujeres (6%). La edad media de la población estudiada fue de 30,7 ($\pm 9,4$) años, con un intervalo comprendido entre 17 y 79 años.

Los principales resultados obtenidos tras los estudios de susceptibilidad antibiótica se muestran en la tabla 1. De los pacientes aislados, 6% presentaron una CMI > 1 mg/L a azitromicina y fueron clasificados como fenotipos *non-wild-type* portadores de mecanismos de resistencia¹⁵. El porcentaje de cepas categorizadas como sensibles a penicilina fue de 4,1% (tanto en CLSI y EUCAST), mientras que 84,3% (CLSI) y 79,7% (EUCAST) resultaron de sensibilidad intermedia, y 11,6% (CLSI) y 16,2% (EUCAST) fueron resistentes. De los gonococos, 5,6% presentaron resistencia plasmídica a la penicilina (PPNG). El porcentaje de cepas resistentes a cefalosporinas de tercera generación fue de 0,5% (CLSI) y 5,9% (EUCAST) para cefixima, y de 1,5% (CLSI) y 2,4% (EUCAST) para ceftriaxona. Aproximadamente el 50% de los aislados fueron resistentes a ciprofloxacino (CLSI y EUCAST), y el 38,2% (CLSI) y 50,9% (EUCAST) lo fueron a tetraciclina. Todas las cepas analizadas resultaron sensibles a espectinomicina.

Por cuestiones técnicas y presupuestarias, la caracterización molecular se realizó en 175 cepas (77% del total). Estos estudios de tipificación revelaron la existencia de 86 ST distintos, conformados por 73 alelos *porB* y 36 alelos *tbpB* diferentes. Nueve aislados no pudieron ser ST-clasificados por corresponder a secuencias nuevas o combinaciones alélicas no incluidas en la base de datos NG-MAST. Los ST más prevalentes fueron el ST2992 (n = 13), ST3378 (n = 12), ST13288 (n = 12), ST2400 (n = 8) y ST5441 (n = 6). Los ST detectados en ≥ 3 aislados y sus alelos se recogen en la tabla 2.

En la tabla 3 se describen los cuatro genogrupos mayoritariamente identificados, junto con sus ST (principal y secundarios) y porcentajes de resistencia asociada a antibióticos (según criterios

Tabla 2

Principales secuenciotipos detectados y alelos (*porB* y *tbpB*) constituyentes

ST	nº cepas	% cepas	Alelo <i>porB</i>	Alelo <i>tbpB</i>
2992	13	7,4	1808	29
3378	12	6,9	2043	110
13288	12	6,9	4991	10
2400	8	4,6	1489	563
5441	6	3,4	30	18
21	4	2,3	14	33
387	4	2,3	266	118
437	4	2,3	14	4
4809	4	2,3	2888	367
5118	4	2,3	3040	32
11547	4	2,3	6766	10
292	3	1,7	28	4
5119	3	1,7	3104	29
8517	3	1,7	1142	1531
Otros*	91	52	-	-

* Incluye 63 ST distintos.

EUCAST), destacando el G1407 (13,1%), seguido del G2992 (10,3%), G2400 (6,3%) y G387 (3,4%). Las 23 cepas incluidas en el mayoritario G1407 mostraron resistencia a ciprofloxacino ($p > 0,02$), genogrupo compuesto principalmente por trece aislados del ST3378 y tan solo dos con ST1407. Dos aislados (ST1407 y ST3378) fueron resistentes a cefixima (CMI 0,19 mg/L en ambos casos) y un tercer aislado (ST3378) presentó una CMI > 1 mg/L frente azitromicina. Una cepa perteneciente al G2992 (ST2992) fue resistente a ceftriaxona (CMI 0,75 mg/L). El G2400, mayoritariamente constituido por cepas con ST2400, se relacionó con resistencia a ciprofloxacino ($p = 0,017$) y tetraciclina ($p = 0,048$).

Discusión

Se calcula que cada año se producen más de 376 millones de nuevas infecciones de transmisión sexual (ITS), representando un grave problema de salud pública a nivel mundial. La IG constituye la segunda ITS de etiología bacteriana más prevalente ocasionalmente, tan solo en el año 2016, un total de 86 millones de nuevos contagios¹⁶, cifra notablemente superior a los 78 millones reportados por la OMS en el año 2012. Además del incremento en su incidencia, NG ha demostrado una excepcional capacidad en el desarrollo de mecanismos que le han permitido evadir la acción de gran parte de los agentes antimicrobianos utilizados para su erradicación. La aparición de cepas resistentes a azitromicina^{15,17} y los cambios en el perfil de resistencia de NG han motivado modificaciones en la pauta farmacológica. Las actuales recomendaciones de la guía americana (CDC)³, inglesa (BSHH)⁵ y europea⁴ proponen duplicar la dosis de ceftriaxona y, en el caso del CDC y del BSHH, abandonar el uso de azitromicina, constituyendo la ceftriaxona en monoterapia el tratamiento empírico más aconsejado.

El informe del programa europeo de vigilancia del gonococo (Euro-GASP) del año 2017 destaca España como uno de los países con mayor tasa de resistencia a la cefixima oral (5,5%) durante el periodo 2009-2017¹⁸, dato concordante con el observado en nuestro análisis (5,9%). A nivel nacional, en el año 2011 Pladevall analizó cepas aisladas en Barcelona que presentaron una resistencia de 10% a cefixima y de 3% a ceftriaxona¹⁹. Un estudio posterior del mismo grupo con un mayor número de cepas determinó una resistencia de 8,3% a cefixima y de 2,8% a ceftriaxona²⁰. Cobo et al. informaron de tasas de resistencia a cefixima de 6,1 y 4,6% a ceftriaxona tras analizar muestras recogidas en el sur de España²¹, porcentajes que disminuyeron hasta 3,7% (cefixima) y 2,9% (ceftriaxona) en sus posteriores trabajos²². El estudio desarrollado en Valencia durante el periodo 2013-2019 por Castaño et al. detectó 3% de aislados resistentes a cefixima y 0,4% a ceftriaxona²³.

Tabla 3

Genogrupos más prevalentes y porcentajes de resistencias antibióticas asociados

Genogrupo (n / %)	ST principal (n)	ST secundarios (n)	% Resistencia azitromicina	% Resistencia cefixima	% Resistencia ceftriaxona	% Resistencia ciprofloxacino	% Resistencia tetraciclina	% Resistencia penicilina
G1407 (23/13%)	1407 (2)	3128 (1) 3149 (2) 3378 (12) 4120 (2) 4936 (1) 5619 (1) 8921 (1) 13123 (1)	4,8	9,5	0,0	100	59,1	95,2
G2992 (18/10%)	2992 (13)	5119 (3) 7636 (2)	0,0	0,0	5,9	0,0	41,2	100
G2400 (11 / 6,3%)	2400 (8)	9184 (2) 11800 (1)	0,0	0,0	0,0	83,3	100	85,7
G387 (6/3,4%)	387 (4)	1945 (1) 5743 (1)	0,0	0,0	0,0	0,0	16,7	66,7

A pesar de las ligeras discrepancias geográficas y temporales, estos datos constatan una resistencia de NG cercana a 5% para cefixima y de 2% para ceftriaxona según criterios EUCAST. Sin embargo, al aplicar criterios CLSI dichos porcentajes resultan inferiores, discordancia especialmente evidente en el caso de la cefixima (0,5 vs. 5,9%) motivada por los diferentes *breakpoints* establecidos por ambas instituciones. Esto puede ocasionar problemas en la clasificación de los aislados, siendo deseable la estandarización de los puntos de corte en base a criterios clínicos, microbiológicos y farmacocinéticos.

En el caso de azitromicina, antimicrobiano considerado la piedra angular en el tratamiento de distintas ITS, ambas sociedades establecen un punto de corte epidemiológico (ECV) de 1 mg/L, siendo esta la CMI que diferencia a las cepas *wild-type*^{11,12}. Recientes estudios suscitan que NG ha adquirido en los últimos años mutaciones cromosómicas en el ARN 23S¹⁵ que, junto con otros mecanismos de resistencia, le permiten evadir la acción de macrólidos. A nivel europeo, el ECDC²⁴ reportó en el año 2018 una resistencia a azitromicina de 7,6%, constituyendo un importante incremento respecto a 3,7% del año 2017. Las resistencias a azitromicina detectadas en otros estudios nacionales^{22,23} han sido de 9 y 9,7%.

La caracterización molecular de los aislados reveló que gran parte (59,3%) de los 86 ST identificados estuvieron presentes en una sola cepa. Los ST mayoritarios detectados en nuestro estudio han sido también identificados a nivel europeo^{14,25} a excepción del ST13288, ST en el que se incluyeron tres cepas con resistencia a cefixima y que nos alerta de la posible aparición de un clón, tan solo descrito en Italia²⁶, con capacidad potencial de evadir el tratamiento empírico de elección en la IG.

La literatura científica destaca el genogrupo G1407 como mayoritario en España y Europa, estrechamente asociado a fracaso terapéutico en Francia²⁷, España²⁸ y Reino Unido²⁹ entre otros países. En nuestro análisis, su alta prevalencia vino principalmente definida por las 12 cepas pertenecientes al ST3378, una de las cuales resultó resistente a cefixima y otra a azitromicina, así como una asociación estadísticamente significativa con aislados resistentes a ciprofloxacino ($p = 0,02$).

Chisholm et al. realizaron la tipificación molecular de 1.066 cepas de NG obtenidas en 21 países europeos participantes en el *European Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme* (Euro-GASP) durante los años 2009–2010¹⁴ concluyendo que, en nuestro país, el G1407 fue el más prevalente seguido del G2992, coincidiendo con los resultados obtenidos en nuestro estudio. Adicionalmente el ECDC también comunicó que el G1407 fue el genogrupo más común en Europa en el año 2009 (23,3%) disminuyendo su presencia en el 2013 (14,8%)²⁶, seguidos de los genogrupos G2992 y G2400, el cual presentó asociación con cepas resistentes a ciprofloxacino ($p = 0,017$) y tetraciclina ($p = 0,048$). El incremento del G2400 es un hallazgo también constatado por

Pladevall, así como su facilidad para el desarrollo de mecanismos de resistencia antimicrobiana²⁰. Finalmente, el G387 presentó en nuestro análisis tasas similares a las reportadas en los estudios europeos mencionados^{14,26}.

El establecimiento de asociaciones entre ST y/o genogrupos y fenotipos de resistencia específicos requiere análisis de tipificación molecular paralelos a los estudios de sensibilidad antibiótica de los aislados. Este hecho acentúa la utilidad de la técnica molecular NG-MAST como método complementario para el conocimiento de las resistencias antimicrobianas. El cultivo convencional sigue siendo indispensable para conocer, lo antes posible, el perfil de sensibilidad antibiótica *in vitro* y establecer el tratamiento más adecuado en cada caso.

Una limitación del presente estudio reside en que las cepas analizadas pertenecieron únicamente a pacientes de la CV, siendo necesaria la vigilancia, tanto epidemiológica como molecular, en áreas y países de nuestro entorno con el objeto de comparar resultados. Otra restricción, a pesar de su menor prevalencia, radica en no haber incluido aislados de muestras faríngeas y anales, los cuales se ha documentado que pueden presentar perfiles de resistencia distintos, debido a que las cepas colonizadoras de estas zonas anatómicas están sometidas a una menor presión antibiótica y una mayor adquisición de genes de resistencia procedentes de otras especies saprófitas de NG³⁰. Por otro lado, no se recogió la orientación sexual de los pacientes englobados en el proyecto GONOvig, información que podría resultar de interés a la hora de establecer relaciones clínico-epidemiológicas.

Como conclusión hay que destacar que los datos moleculares obtenidos revelan que la población de NG circulante en la CV muestra similitudes con cepas aisladas en otras zonas geográficas, destacando la alta prevalencia del ST2992 y ST2400. Nuestra investigación demuestra que existe correlación entre determinados ST y/o genogrupos y resistencias antibióticas, especialmente a ciprofloxacino y tetraciclina. Finalmente, la resistencia a cefalosporinas de tercera generación se mantuvo baja, menor en el caso de ceftriaxona (2,4%) respecto a cefixima (5,9%), mientras que las cepas con altas CMIs de azitromicina se han incrementado en los últimos años (6%).

Financiación

El proyecto GONOvig ha recibido dos becas de apoyo a la investigación por parte del HULR. Estas ayudas permitieron la compra del material y de los medios necesarios para la realización de la fase experimental del estudio.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Agradecimientos

A la Fundación FISABIO así como al personal técnico y facultativo que colaboró en el Proyecto GONOvig.

Bibliografía

1. Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, et al. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull World Health Organ.* 2019;97:548–62, <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.18.228482>.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Gonorrhoea: Annual Epidemiological Report for 2018. [consultado 4 Jul 2022]. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/gonorrhoea-annual-epidemiological-report-2018.pdf>; 2020.
3. St Cyr S, Barbee L, Workowski KA, Bachmann LH, Pham C, Schlanger K, et al. Update to CDC's Treatment Guidelines for Gonococcal Infection, 2020. *Morb Mortal Wkly Rep.* 2020;69:1911–6, <http://dx.doi.org/10.1558/mmwr.mm6950a6>.
4. Unemo M, Ross JDC, Serwin AB, Gomberg M, Cusini M, Jensen JS. 2020 European guideline for the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. *Int J STD AIDS.* 2020;32:1018–26, <http://dx.doi.org/10.1177/0956462420949126>.
5. Fifer H, Saunders J, Soni S, Sadiq ST, Fitzgerald M. 2018 UK national guideline for the management of infection with Neisseria gonorrhoeae. *Int J STD AIDS.* 2020;31:4–15, <http://dx.doi.org/10.1177/0956462419886775>.
6. Bilek N, Martin IM, Bell G, Kinghorn GR, Ison CA, Spratt BG. Concordance between Neisseria gonorrhoeae genotypes recovered from known sexual contacts. *J Clin Microbiol.* 2007;45:3564–7, <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01453-07>.
7. Palmer HM, Young H, Graham C, Dave J. Prediction of antibiotic resistance using Neisseria gonorrhoeae multi-antigen sequence typing. *Sex Transm Infect.* 2008;84:280–4, <http://dx.doi.org/10.1136/sti.2008.029694>.
8. Monfort L, Caro V, Devaux Z, Delannoy AS, Brisse S, Sednaoui P. First Neisseria gonorrhoeae genotyping analysis in France: identification of a strain cluster with reduced susceptibility to ceftriaxone. *J Clin Microbiol.* 2009;47:3540–5, <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.01236-09>.
9. World Health Organization (WHO). 2019 Antibacterial agents in clinical development: an analysis of the antibacterial clinical development pipeline. [consultado 14 Jul 2022]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330420/9789240000193-eng.pdf>; 2019.
10. Guo L, Ye L, Zhao Q, Ma Y, Yang J, Luo Y. Comparative study of MALDI-TOF MS and VITEK 2 in bacterium identification. *J Thorac Dis.* 2014;6:534–8, <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2072-1439.2014.02.18>.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. (ISBN 978-1-68440-066-9 [Print]; ISBN 978-1-68440-067-6 [Electronic]).
12. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0. [consultado 6 Jul 2022]. Disponible en: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v.10.0.Breakpoint_Tables.pdf; 2020.
13. Martin IM, Ison CA, Aanensen DM, Fenton KA, Spratt BG. Rapid sequence-based identification of gonococcal transmission clusters in a large metropolitan area. *J Infect Dis.* 2004;189:1497–505, <http://dx.doi.org/10.1086/383047>.
14. Chisholm SA, Unemo M, Quaye N, Johansson E, Cole MJ, Ison CA, et al. Molecular epidemiological typing within the European Gonococcal Antimicrobial Resistance Surveillance Programme reveals predominance of a multidrug-resistant clone. *Eurosurveillance.* 2013;18:20358, <http://dx.doi.org/10.2807/ese.18.03.20358-en>.
15. Jacobsson S, Golparian D, Cole M, Spiteri G, Martin I, Bergheim T, et al. WGS analysis and molecular resistance mechanisms of azithromycin-resistant (MIC >2 mg/L) Neisseria gonorrhoeae isolates in Europe from 2009 to 2014. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:3109–16, <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkw279>.
16. World Health Organization. 2018 Report on global sexually transmitted infection surveillance. [consultado 6 Jul 2022]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/277258/9789241565691-eNG.pdf>; 2018.
17. Jennison AV, Whiley D, Lahra MM, Graham RM, Cole MJ, Hughes G, et al. Genetic relatedness of ceftriaxone-resistant and high-level azithromycin resistant Neisseria gonorrhoeae cases, United Kingdom and Australia February to April 2018. *Eurosurveillance.* 2019;24:1–4, <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019248.1900118>.
18. European Centre for Disease Prevention and Control. Gonococcal antimicrobial susceptibility surveillance in Europe – Results summary 2017. [consultado 6 Jul 2022]. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Euro-GASP-2017.pdf>; 2019.
19. Serra-Pladevall J, Barberá-Gracia MJ, Roig-Carabajosa G, Juvé-Saumell R, González-López JJ, Bartolomé-Comas R, et al. Neisseria gonorrhoeae: Antimicrobial resistance and study of population dynamics. Situation in Barcelona in 2011. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2013;31:579–83, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.03.010>.
20. Serra Pladevall J. Neisseria gonorrhoeae: monitorització de la sensibilitat antimicrobiana, estudi de la dinàmica poblacional i caracterització molecular de les resistències. 2016. [consultada el 6 de julio de 2022]. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10803/400390>
21. Cobo F, Cabezas-Fernández MT, Cabeza-Barrera MI. Antimicrobial susceptibility and typing of Neisseria gonorrhoeae strains from Southern Spain, 2012–2014. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2016;34:3–7, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2015.01.017>.
22. Cobo F, Cabezas-Fernández MT, Avívar C. Typing and antimicrobial susceptibility of 134 Neisseria gonorrhoeae strains from Southern Spain. *Rev Esp Quimioter.* 2019;32:114–20. PMID: 30727713; PMCID: PMC6441978.
23. Castaño Aroca MJ, Acosta Boga B, Lozano Rodríguez N, Chouman Arcas R. Antimicrobial susceptibility study of Neisseria gonorrhoeae in the health area of the University and Polytechnic La Fe Hospital of Valencia. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2020;38:348–9, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2019.12.002>.
24. European Centre for Disease Prevention and Control. Gonococcal antimicrobial susceptibility surveillance in Europe – Results summary 2018. 2020. [consultado 7 Jul 2022]. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/gonococcal-antimicrobial-susceptibility-Euro-GASP-2018-Erratum.pdf>.
25. European Centre for Disease Prevention and Control. Molecular typing of Neisseria gonorrhoeae – a study of 2013 isolates. 2018. [consultado 7 Jul 2022]. Disponible en: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Molecular-typING-N-gonorrhoeae-web.pdf>.
26. Carannante A, Vacca P, Lo Presti A, Stefanelli P. Sorveglianza di laboratorio dell'antibiotico-resistenza in Neisseria gonorrhoeae: risultati del biennio 2016–2017. Not Ist Super Sanità. 2019;32:8–15 [consultado 7 Jul 2022]. Disponible en: https://www.iss.it/documents/20126/0/MARZO.pdf/5990bce7-e216-39c2-82a9-eeb7e2b6f3d?_=1604583886439.
27. Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Gallay A, Sednaoui P. High-level cefixime and ceftriaxone-resistant Neisseria gonorrhoeae in France: novel penA mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:1273–80, <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.057605760-11>.
28. Cámaras J, Serra J, Ayats J, Bastida T, Carnicer-Pont D, Andreu A, et al. Molecular characterization of two high-level ceftriaxone-resistant Neisseria gonorrhoeae isolates detected in Catalonia. Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2012;67:1858–60, <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dks162>.
29. Ison CA, Hussey J, Sankar KN, Evans J, Alexander S. Gonorrhoea treatment failures to cefixime and azithromycin in England, 2010. *Eurosurveillance.* 2011;16:19833. PMID: 21492528.
30. Aliról E, Wi TE, Bala M, Bazzo ML, Chen XS, Deal C, et al. Multidrug-resistant gonorrhoea: A research and development roadmap to discover new medicines. *PLoS Med.* 2017;14:e1002366, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1002366>.