



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Original

## *Neisseria gonorrhoeae*: resistencias antimicrobianas y estudio de la dinámica poblacional. Situación en 2011 en Barcelona

Judit Serra-Pladevall<sup>a,\*</sup>, María Jesús Barberá-Gracia<sup>b</sup>, Glòria Roig-Carbajosa<sup>c</sup>, Rosa Juvé-Saumell<sup>d</sup>, Juan José Gonzalez-Lopez<sup>a</sup>, Rosa Bartolomé-Comas<sup>a</sup> y Antònia Andreu-Domingo<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Servei de Microbiologia, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, España

<sup>b</sup> Unitat d'Infeccions de Transmissió Sexual Drassanes, CAP Drassanes, Barcelona, España

<sup>c</sup> Servei d'Anàlisis Clíniques, Secció Microbiologia, CAP Manso, Barcelona, España

<sup>d</sup> Laboratori Clínic Bon Pastor, Barcelona, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 13 de diciembre de 2012

Aceptado el 8 de marzo de 2013

On-line el 25 de abril de 2013

#### Palabras clave:

*Neisseria gonorrhoeae*

Gonorrea

Test de sensibilidad antimicrobiana

Dinámica poblacional

### R E S U M E N

**Introducción:** Las altas tasas de resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* (NG) a ciertos antibióticos, junto con la aparición de cepas con sensibilidad disminuida y resistencia a las cefalosporinas, hacen de la infección gonocócica un problema de salud pública. Los objetivos del estudio fueron: realizar el seguimiento de la sensibilidad antimicrobiana de NG obtenidas entre enero y agosto de 2011, y estudiar su dinámica poblacional.

**Métodos:** Se estudió la sensibilidad mediante el método disco-difusión y E-test. El genotipado se realizó mediante el NG-MAST.

**Resultados:** De un total de 100 cepas, el 59% presentaron sensibilidad intermedia a penicilina y el 9% resistencia. Según EUCAST, se detectaron 3 gonococos con sensibilidad disminuida a ceftriaxona, 10 a cefixima y uno con resistencia de alto nivel a ambos (CMI 1,5 µg/ml). La CMI<sub>50</sub> y la CMI<sub>90</sub> a cefixima fue de 0,016 y de 0,125 µg/ml, mientras que a ceftriaxona fue < 0,016 y 0,064 µg/ml. El 99% presentó resistencia a doxiciclina, el 53% a ciprofloxacino, el 3% a azitromicina y el 1% a espectinomicina. El ST más prevalente fue el ST1407, mayoritariamente asociado a resistencia o sensibilidad disminuida a cefalosporinas o macrólidos.

**Conclusión:** NG ha desarrollado tasas importantes de resistencia a distintos antibióticos. Se ha detectado una cepa con resistencia de alto nivel a las cefalosporinas de tercera generación y varias con sensibilidad disminuida, además de observarse un aumento de la CMI<sub>50</sub> y de la CMI<sub>90</sub> a estos antibióticos. La estructura poblacional de NG permanece estable y común al resto de Europa, aunque se han identificado 2 nuevos secuenciotipos (ST7226 y ST7227) con potencial para seleccionarse y adquirir altos niveles de resistencia a cefalosporinas.

© 2012 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## *Neisseria gonorrhoeae*: Antimicrobial resistance and study of population dynamics. Situation in Barcelona in 2011

### A B S T R A C T

#### Keywords:

*Neisseria gonorrhoeae*

Gonorrhoea

Microbial sensitivity test

Population dynamics

**Background:** Due to the high rates of antimicrobial resistance to certain antibiotics, together with the emergence of *Neisseria gonorrhoeae* (NG) with reduced susceptibility and resistance to third-generation cephalosporins, gonococcal infection is becoming a public health problem. The objectives of the study were: To keep track of the antimicrobial susceptibility of NG strains obtained from January to August 2011. To study the population dynamics.

**Methods:** The antimicrobial susceptibility was studied by disk-diffusion and E-test. The genotyping was performed by NG-MAST method.

**Results:** Of a total of 100 strains studied, 59% showed intermediate sensitivity to penicillin and 9% were resistant. According to EUCAST, we detected 3 gonococci with reduced susceptibility to ceftriaxone, 10 to cefixime and one with high-level resistance to both antibiotics (MIC 1.5 µg/ml). MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> to cefixime were 0.016 and 0.125 µg/ml, respectively, whereas to

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: [juserra@vhebron.net](mailto:juserra@vhebron.net) (J. Serra-Pladevall).

ceftriaxone they were  $< 0.016$  and  $0.064 \mu\text{g/ml}$ , respectively. Almost all (99%) of the strains were resistant to doxycycline, 53% to ciprofloxacin, 3% to azithromycin, and 1% to spectinomycin. The most prevalent ST was ST1407, predominantly associated to resistance or reduced sensitivity to cephalosporins or macrolides.

**Conclusions:** NG has developed significant rates of resistance to various antibiotics. One strain has been detected with high level resistance to third generation cephalosporins, and several strains with reduced susceptibility. An increase in MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> to these antibiotics has also been observed. NG population structure remains stable and common to the rest of Europe, although two new ST (ST7226 and ST7227) have been identified that could be selected and acquire high levels of resistance to cephalosporins.

© 2012 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

Actualmente la infección gonocócica es la segunda infección de transmisión sexual de etiología bacteriana más prevalente<sup>1</sup>, tras la causada por *Chlamydia trachomatis*. *Neisseria gonorrhoeae* (NG) representa un problema de salud pública importante, tanto por su magnitud como por las complicaciones y secuelas a que da lugar. Debido a la ausencia de vacunas efectivas, un diagnóstico apropiado, así como un tratamiento antimicrobiano efectivo, son 2 de las principales herramientas para evitar la diseminación de la infección<sup>2</sup>.

En Estados Unidos el *Center of Diseases Control* (CDC) informó, en 2007, 355.991 casos, lo que representa una tasa de 118,9 por 100.000 habitantes<sup>3</sup>, aunque en los últimos años se ha observado una leve disminución de su incidencia, con una tasa en 2009 de 99,1 por 100.000<sup>4</sup>. En Europa, en el año 2007 la tasa de infección gonocócica era muy variable según el área geográfica, oscilando entre 0,3/100.000 en Italia y 30,8/100.000 en el Reino Unido<sup>5</sup>. En España, el sistema de enfermedades de declaración obligatoria (EDO) notificó 1.954 casos el 2009, lo que representa una tasa de 4,33 por cada 100.000 habitantes. Desde 1995, año en que la tasa alcanzó el máximo de 11,69, se observó un claro descenso de la incidencia de la infección gonocócica, pero a partir de 2002 se advierte un incremento continuado<sup>6</sup>. La comparación entre las tasas de incidencia observadas en Estados Unidos y en diversas partes de Europa con las de España sugiere que en nuestro país la infección gonocócica está infradiagnosticada y/o infranotificada.

A lo largo de la historia se han utilizado diversos antimicrobianos para el tratamiento de la gonorrea, siendo actualmente de elección las cefalosporinas de tercera generación, concretamente ceftriaxona 250 mg intramuscular o cefixima 400 mg vía oral en dosis única. En 2001 en Japón se detectó por primera vez una cepa de gonococo con sensibilidad disminuida a las cefalosporinas de tercera generación, y posteriormente se han descrito casos en todo el mundo cada vez con más frecuencia. En 2009, el *Gonococcal Resistance to Antimicrobials Surveillance Programme* (GRASP) reportó que en Inglaterra el 1,2% de las cepas de gonococo presentaban sensibilidad disminuida a cefixima (definida como CMI  $\geq 0,25 \mu\text{g/ml}$ ) y el 10,6% presentaban una CMI  $\geq 0,125 \mu\text{g/ml}$ <sup>7</sup>. Actualmente las guías terapéuticas de Estados Unidos y del Reino Unido recomiendan cefixima solamente como alternativa a la ceftriaxona cuando esta no es una opción de tratamiento, y la guía del Reino Unido<sup>8</sup> ya recomienda ceftriaxona a dosis de 500 mg como tratamiento empírico de primera línea. En el año 2011 se han descrito las primeras 5 cepas de NG con resistencia de alto nivel a ceftriaxona, 2 de las cuales se han aislado en España<sup>9,10</sup>.

En este contexto se planteó el presente estudio, cuyos objetivos fueron estudiar la sensibilidad antimicrobiana de cepas de NG aisladas recientemente en la ciudad de Barcelona, lo que permitirá mantener las guías terapéuticas actualizadas, y realizar un genotipado de las mismas con la finalidad de detectar cambios epidemiológicos en las cepas circulantes.

## Métodos

### Cepas de *Neisseria gonorrhoeae*

Desde enero hasta agosto de 2011 en el Servicio de Microbiología del Hospital Vall d'Hebron se estudiaron 100 cepas de NG procedentes de pacientes atendidos en la Unitat d'Infeccions de Transmissió Sexual de Drassanes (UITSD) de Barcelona, en el Hospital Vall d'Hebron de Barcelona y en los centros de atención primaria y de planificación familiar adscritos al mismo (unos 140). Correspondieron a 85 varones, 9 mujeres y 6 de los que no se dispuso de la información sobre el sexo. Setenta y siete cepas se aislaron en exudados uretrales, 14 en rectales, 7 en endocervicales, una en un exudado vaginal y una en un frotis faríngeo.

La identificación de las cepas se realizó mediante tinción de Gram, prueba de la citocromo-oxidasa, producción de catalasa, identificación bioquímica mediante el sistema API NH (bioMérieux, Francia) y el test de coagulación utilizando el kit Phadebact® Monoclonal GC Test de Bactus (Becton Dickinson, Francia).

### Estudio de sensibilidad antimicrobiana

El estudio de la sensibilidad antimicrobiana se realizó siguiendo las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)<sup>11</sup>. El medio utilizado fue el medio selectivo CG (Becton Dickinson, Francia) suplementado al 1% con IsoVitalax (Becton Dickinson, Francia). Como cepa control se utilizó la ATCC 49226.

A partir de un subcultivo en medio no selectivo se preparó una suspensión con un McFarland de 0,5 en solución salina.

Mediante la técnica de E-test se estudió la sensibilidad a penicilina (0,002-32  $\mu\text{g/ml}$ ), ceftriaxona (0,016-256  $\mu\text{g/ml}$ ) y cefixima (0,016-256  $\mu\text{g/ml}$ ) (bioMérieux España S.A.) y mediante el método de disco-difusión a azitromicina, ácido nalidíxico, ciprofloxacino, espectinomicina y doxiciclina. En las cepas resistentes a azitromicina se estudió su CMI mediante el E-test (0,016-256  $\mu\text{g/ml}$ ) (bioMérieux España S.A.).

Las placas se incubaron 18-24 h a 36 °C en atmósfera al 5% CO<sub>2</sub>.

La interpretación de las CMI se hizo según los criterios de *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) en el caso de disco-difusión y según CLSI<sup>11</sup> y EUCAST<sup>12</sup> en el caso del E-test. Así, para la disco-difusión se consideraron sensibles a azitromicina las cepas con halo  $\geq 27$  mm, intermedio entre 26-24 mm y resistente  $< 24$  mm; para el ácido nalidíxico se consideró resistente un halo  $< 25$  mm; para ciprofloxacino se consideró sensible un halo  $\geq 42$  mm, intermedio entre 41-40 mm y resistente  $< 40$  mm; para espectinomicina fueron sensibles  $\geq 20$  mm, intermedios entre 19-17 mm y resistentes  $< 17$  mm, y para doxiciclina se consideraron resistentes las cepas con halo  $< 33$  mm. En el caso del E-test, CLSI considera sensibilidad disminuida (SD) cuando la CMI a cefixima es  $\geq 0,25 \mu\text{g/ml}$  y a ceftriaxona  $\geq 0,125 \mu\text{g/ml}$  y EUCAST cuando la CMI a ambos antibióticos es  $> 0,12 \mu\text{g/ml}$ .

A todas las cepas se les estudió la producción de betalactamasa por la técnica acidimétrica en medio líquido.

**Tabla 1**  
Resistencias antimicrobianas de las 100 cepas estudiadas de *Neisseria gonorrhoeae*

	EUCAST		
	S (%)	I (%)	R (%)
Penicilina	32	59	9
Ceftriaxona	96	3	1
Cefixima	89	10	1
Azitromicina	96	1	3
Ciprofloxacino	47	–	53
Doxiciclina	1	–	99
Espectinomina	99	–	1

I: sensibilidad intermedia; R: resistente; S: sensible.

Las cepas se congelaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  en caldo Trypticase Soy con un 20% de glicerol para la realización posterior de los estudios moleculares.

### Tipificación molecular

Se utilizó el *Neisseria gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing (NG-MAST) para la tipificación molecular de las cepas<sup>13</sup>. Brevemente, se extrajo el ADN y se amplificaron por PCR fragmentos internos de los genes *porB* y *tbpB*. A continuación se secuenciaron en los 2 sentidos y se analizó la secuencia. Utilizando la página web de NG-MAST ([www.ng-mast.net](http://www.ng-mast.net)) se asignó el correspondiente alelo a cada gen y el secuenciotipo (ST) resultante de la combinación de ellos a cada cepa. A las secuencias de los genes *porB* y *tbpB* no descritas anteriormente se les asignó un nuevo número alélico utilizando la base de datos disponible en <http://www.mlst.net>.

### Resultados

De la determinación de la CMI de penicilina se deduce que el 32% de las cepas de NG fueron sensibles a este  $\beta$ -lactámico (CMI  $\leq 0,06 \mu\text{g/ml}$ ), el 59% presentaron sensibilidad intermedia (CMI  $0,07$ – $1 \mu\text{g/ml}$ ) y el 9% fueron resistentes (CMI  $> 1 \mu\text{g/ml}$ ) (tabla 1). Del total de los 68 gonococos con sensibilidad intermedia o resistente, el 10,3% lo fueron por acción de una  $\beta$ -lactamasa plasmídica. De las 7 cepas productoras de  $\beta$ -lactamasa, 3 presentaron una CMI de  $0,38 \mu\text{g/ml}$ ,  $6 \mu\text{g/ml}$  y  $8 \mu\text{g/ml}$ , respectivamente; 2 cepas de  $12 \mu\text{g/ml}$ , y las 2 restantes,  $> 32 \mu\text{g/ml}$ .

La sensibilidad a las cefalosporinas de tercera generación se determinó mediante el E-test y los resultados variaron en función de los puntos de corte utilizados. Así, según CLSI, no se obtuvo ningún gonococo con sensibilidad disminuida a cefixima y 3 a ceftriaxona; en cambio, según EUCAST, se obtuvieron 3 cepas con SD a ceftriaxona y 10 a cefixima<sup>14</sup>. En mayo de 2011 se detectó la primera cepa con resistencia de alto nivel a las cefalosporinas<sup>9,10</sup>, presentando una CMI de  $1,5 \mu\text{g/ml}$  para ceftriaxona, cefixima y cefotaxima. El total de las cepas estudiadas exhibieron una CMI<sub>50</sub> y una CMI<sub>90</sub> a cefixima de  $0,016$  y  $0,125 \mu\text{g/ml}$ , respectivamente, mientras que las CMI<sub>50</sub> y CMI<sub>90</sub> a ceftriaxona fueron  $< 0,016$  y  $0,064 \mu\text{g/ml}$ .

Fueron resistentes a azitromicina el 3% de los aislamientos, de los cuales una cepa presentó un halo de 9 mm correspondiente a una CMI de  $24 \mu\text{g/ml}$ , una de 19 mm (cepa no viable para la determinación de la CMI) y una de 21 mm con una CMI de  $0,75 \mu\text{g/ml}$ . Una cuarta cepa con halo de 22 mm presentó una CMI de  $0,5 \mu\text{g/ml}$ , lo que se consideró sensibilidad disminuida.

Por lo que refiere a las quinolonas, los resultados de sensibilidad a ciprofloxacino concordaron al 100% con los del ácido nalidíxico, siendo el 47% de las cepas sensibles y el 53% resistentes a estos antibióticos.

Solo una cepa mantuvo la sensibilidad a doxiciclina, siendo el 99% de los restantes aislamientos resistentes. Veinte de las cepas resistentes presentaron un halo  $< 19$  mm.

Fueron sensibles a la espectinomina el 99% de los gonococos estudiados, aislándose una única cepa resistente con un halo de 9 mm.

De las 100 cepas solo una fue sensible a los 7 antimicrobianos estudiados. De las restantes, 27 fueron resistentes solo a doxiciclina. Otras 22 cepas fueron resistentes a 2 antibióticos: 17 a doxiciclina y con resistencia o disminución de la sensibilidad a penicilina y 5 a doxiciclina y quinolonas. Treinta y cinco cepas fueron resistentes a 3 antibióticos: 33 a doxiciclina, penicilina y quinolonas y 2 a doxiciclina, penicilina y azitromicina. Las restantes 15 cepas pueden considerarse multiresistentes, ya que fueron resistentes a más de 3 antimicrobianos, siendo: 12 cepas resistentes a doxiciclina, ciprofloxacino y resistentes o con SD a penicilina y cefalosporinas; una cepa a doxiciclina, ciprofloxacino, azitromicina y sensibilidad intermedia a penicilina; una cepa a doxiciclina, ciprofloxacino, espectinomina y sensibilidad intermedia a penicilina, y una cepa a doxiciclina, ciprofloxacino, azitromicina y sensibilidad intermedia a penicilina y cefalosporinas.

Las 3 cepas con sensibilidad disminuida a ceftriaxona también presentaron sensibilidad disminuida a penicilina, con CMI a este antibiótico de  $0,125$ ,  $0,38$  y  $0,5 \mu\text{g/ml}$ , respectivamente, y además fueron resistentes a doxiciclina.

La tipificación molecular mediante NG-MAST se llevó a cabo en un total de 45 cepas que incluían la cepa resistente a ceftriaxona y cefixima, las 10 cepas con sensibilidad disminuida a alguno de estos 2 antimicrobianos, las 4 cepas resistentes o con sensibilidad disminuida a azitromicina y 29 cepas seleccionadas aleatoriamente de entre el resto de cepas sensibles a estos antibióticos.

El ST más prevalente fue el ST1407 (27%), al cual pertenecía la cepa resistente a ceftriaxona y cefixima, 7 de las 10 cepas con sensibilidad disminuida a alguno de estos 2 antibióticos y 2 de las 3 cepas resistentes a azitromicina. Dos cepas con sensibilidad disminuida a cefixima pertenecían a los ST7226 y ST7227, los cuales comparten el mismo alelo *tbpB* (alelo 110) entre ellos y con el ST1407, y una al ST4843, el cual comparte el alelo *porB* (alelo 908) también con el ST1407. La restante cepa resistente a azitromicina perteneció al ST7228 y una de las cepas con sensibilidad disminuida a cefixima no pudo ser tipificada mediante este método. Las 29 cepas sensibles a cefalosporinas y azitromicina se distribuyeron entre 22 ST diferentes, perteneciendo 3 de ellas al ST1407 (tabla 2). Los ST 7223, 7224, 7225, 7226, 7227, 7228, 7230, 7231, 7232, 7233, 7234, 7235 y 7236 fueron de nueva descripción.

### Discusión

Debido a la tendencia al aumento de la infección gonocócica y sobre todo a la aparición de cepas multiresistentes, es fundamental desarrollar programas de monitorización de resistencias y así poder mantener las guías terapéuticas actualizadas para un correcto manejo del paciente.

Este estudio muestra los altos porcentajes de resistencia de NG en nuestro medio, de manera que penicilina (68% de cepas resistentes o sensibilidad disminuida), ciprofloxacino (53% de cepas resistentes) y doxiciclina (99%) están lejos de poder utilizarse como tratamiento empírico de elección.

El 10% de los gonococos presentaron una CMI  $\geq 0,125 \mu\text{g/ml}$  a cefixima y el 3% a ceftriaxona. No siempre una CMI  $\geq 0,125 \mu\text{g/ml}$  se relaciona con fracaso terapéutico<sup>15</sup>, por lo que son necesarios acuerdos para establecer los puntos de corte apropiados. A pesar de ello, en todo el mundo se ha descrito una disminución de la sensibilidad de NG a las cefalosporinas y casos de fracaso terapéutico con cefixima. En 2010 el GRASP reportó que en Inglaterra el 6,3% de las cepas de gonococo presentaban sensibilidad disminuida a cefixima (definida como CMI  $\geq 0,25 \mu\text{g/ml}$ ) y el 17,4% presentaban

**Tabla 2**  
Distribución de los ST en las 45 cepas estudiadas de *Neisseria gonorrhoeae*

ST (número de aislados)	Sensibilidad antimicrobiana <sup>a</sup>			Alelo	
	Ceftriaxona	Cefixima	Azitromicina	porB	tbpB
1407 (1)	R	R	S	908	110
1407 (1)	SD	S	S	908	110
1407 (4)	S	SD	S	908	110
1407 (1)	SD	SD	S	908	110
1407 (1)	S	S	R	908	110
1407 (1)	SD	SD	R	908	110
1407 (3)	S	S	S	908	110
<b>7226 (1)</b>	<b>S</b>	<b>SD</b>	<b>S</b>	<b>4321</b>	<b>110</b>
<b>7227 (1)</b>	<b>S</b>	<b>SD</b>	<b>S</b>	<b>4324</b>	<b>110</b>
4843 (1)	S	SD	S	908	1021
<b>7228 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>R</b>	<b>65</b>	<b>1103</b>
<b>7228 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>65</b>	<b>1103</b>
<b>7224 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>SD</b>	<b>4325</b>	<b>29</b>
<b>7223 (4)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>1143</b>	<b>4</b>
1582 (3)	S	S	S	997	137
2992 (3)	S	S	S	1808	29
21 (1)	S	S	S	14	33
104 (1)	S	S	S	134	35
210 (1)	S	S	S	59	4
286 (1)	S	S	S	105	21
341 (1)	S	S	S	2078	110
2487 (1)	S	S	S	1534	241
4949 (1)	S	S	S	3001	29
5422 (1)	S	S	S	3291	29
6210 (1)	S	S	S	1914	1262
<b>7225 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>565</b>	<b>32</b>
<b>7230 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>1417</b>	<b>1103</b>
<b>7231 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>1914</b>	<b>1389</b>
<b>7232 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>1489</b>	<b>1388</b>
<b>7233 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>4322</b>	<b>1000</b>
<b>7234 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>4323</b>	<b>39</b>
<b>7235 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>908</b>	<b>1180</b>
<b>7236 (1)</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>65</b>	<b>118</b>

R: resistente; S: sensible; SD: sensibilidad disminuida.

Los ST de nueva descripción figuran en **negrita**.

<sup>a</sup> Resultados interpretados según criterios del *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST).

una CMI  $\geq 0,125 \mu\text{g/ml}$ <sup>7</sup>. El *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC), en el estudio de vigilancia de la sensibilidad del gonococo (*European gonococcal antimicrobial surveillance*, Euro-GASP), reportó que en 2010 el 9% del total de las cepas de NG presentaba sensibilidad disminuida a cefixima (CMI  $> 0,125 \mu\text{g/ml}$ ), y que este porcentaje se elevaba al 16% en las cepas procedentes de España<sup>16</sup>. Actualmente las guías terapéuticas de Estados Unidos y del Reino Unido recomiendan cefixima 400 mg como alternativa solo cuando ceftriaxona no es una opción de tratamiento.

Este estudio incluye la primera cepa en España con resistencia de alto nivel a las cefalosporinas<sup>9,10</sup>, detectada en mayo del 2011, y que es uno de los primeros casos a escala mundial. La primera se aisló en Japón en 2011 de un frotis faríngeo de una paciente asintomática<sup>17</sup>, y la segunda y tercera en Francia<sup>18</sup> y Austria<sup>19</sup>, respectivamente, del exudado uretral de 2 varones que hacían sexo con varones, y la cuarta y quinta en España en mayo de 2011 del tracto anal y uretral, respectivamente, en 2 varones relacionados sexualmente<sup>9,10</sup>.

En este estudio se observa un aumento de la CMI<sub>50</sub> y de la CMI<sub>90</sub> a cefixima y ceftriaxona, con respecto a lo publicado en años anteriores, que era de 0,008 y 0,03 mg/l para cefixima y de 0,002 y 0,008 para ceftriaxona<sup>20</sup>. Ello tiene consecuencias ya que, aunque hasta ahora el tratamiento empírico de primera elección de la gonococia no complicada es ceftriaxona 250 mg, algunas guías, como la del Reino Unido<sup>8</sup>, empiezan a recomendar aumentar la dosis hasta 500 mg debido precisamente a los incrementos de las CMI y a la aparición de cepas con sensibilidad disminuida frente a estos antibióticos.

La azitromicina, cuando empezó a usarse, se consideraba la panacea para el tratamiento de las infecciones de transmisión sexual de etiología bacteriana, ya que presentaba una buena penetración en tejidos, una vida media larga y se administraba por vía oral. Probablemente debido al uso generalizado de la azitromicina para tratar infecciones respiratorias e infecciones de transmisión sexual por *Ch. trachomatis*, se ha desarrollado resistencia a este antimicrobiano. En este estudio se detectaron un 3% de cepas resistentes, aunque ninguna de ellas presentó resistencia de alto nivel (CMI  $> 256 \mu\text{g/ml}$ ). Esto representa un aumento respecto a años anteriores, ya que en el estudio realizado por este grupo durante el periodo 2007-2010 solo se aisló una cepa resistente a este antibiótico en nuestro medio (póster presentado en el XV Congreso de la SEIMC 2011 «*Neisseria gonorrhoeae*: resistencia antimicrobiana durante 2007-2010. ¿Qué nos depara el futuro?»). Una cuarta cepa presentó una CMI de  $0,5 \mu\text{g/ml}$ , lo que según EUCAST puede considerarse con sensibilidad disminuida. En este sentido, para azitromicina no están claros los puntos de corte a utilizar. EUCAST define resistente cuando la CMI es  $> 0,5 \mu\text{g/ml}$ , dejando a las cepas de  $0,5 \mu\text{g/ml}$  en un limbo interpretable como de sensibilidad disminuida, aunque no las defina como tales. Sin embargo, el Euro-GASP define resistentes a azitromicina a las cepas con CMI  $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ . En el estudio realizado por esta red en el año 2010<sup>16</sup>, la resistencia a azitromicina fue del 7%, con oscilaciones que iban del 30% en Eslovaquia al 0% en Francia, Chipre, Hungría, Malta y Reino Unido. La azitromicina actualmente no se recomienda como tratamiento único para la gonococia, pero sí en tratamiento combinado, no solo porque trata las coinfecciones de NG *Ch. trachomatis*, sino porque in vitro se ha evidenciado sinergia entre azitromicina



y cefalosporinas y porque mejora la erradicación de la gonorrea faríngea<sup>8</sup>. La azitromicina constituye una alternativa para el tratamiento de las infecciones gonocócicas no complicadas en pacientes con alergia documentada a penicilinas o cefalosporinas.

Es extremadamente importante detectar los cambios poblacionales de NG y así poder controlar y prevenir su diseminación. Debido a la gran diversidad genética de este microorganismo, se han desarrollado una gran variedad de métodos para su estudio, siendo los métodos genotípicos los de elección debido a su poder de discriminación y a su reproducibilidad y objetividad. Uno de los más utilizados actualmente es el denominado NG-MAST, el cual permite comparar los clones circulantes entre diferentes ciudades o países, a diferencia de las comparaciones de perfiles de macrorrestricción obtenidos por electroforesis en campo pulsado que son útiles para hacer comparaciones epidemiológicas locales. En este estudio se demuestra que nuestra población de gonococos es similar a la que circula en el resto de Europa, ya que el ST1407 es el más prevalente aquí y en el resto del continente. Es de destacar que entre los 45 aislamientos estudiados, 4 pertenecieron al ST de nueva descripción ST7223, de manera que se podría pensar que es un nuevo clon que podría constituirse en emergente en nuestro país.

Por otro lado, se necesita seguir investigando si determinados ST están relacionados con fenotipos de resistencia específicos, utilizando un mayor número de aislamientos que sean fenotípicamente, genéticamente, geográficamente y temporalmente diversos<sup>1</sup>. En este estudio, el aislamiento con resistencia de alto nivel, los 3 con sensibilidad disminuida a ceftriaxona y 6 de los 10 con sensibilidad disminuida a cefixima pertenecen al ST1407, al que también pertenecen la cepa con resistencia de alto nivel a ceftriaxona aislada en Francia<sup>18</sup>, y la aislada en Austria<sup>19</sup>; mientras que la cepa resistente aislada en Japón pertenece al ST4220<sup>17</sup>. Otro aspecto interesante de la caracterización poblacional de las cepas estudiadas es la detección de 2 cepas pertenecientes a 2 nuevos ST (ST7226 y ST7227), las cuales poseen una sensibilidad disminuida a ceftriaxona. Estos 2 ST comparten con el ST1407 el alelo del gen *tbpB* (alelo 110) y únicamente se diferencian en el alelo del gen *porB* (alelos 4321 y 4324, respectivamente). Estos 2 alelos *porB* de los ST7226 y ST7227 difieren, respectivamente, en 3 cambios nucleotídicos con el alelo del ST1407 (datos no mostrados). Este hecho sugiere que los ST7226 y ST7227 habrían surgido a partir del ST epidémico ST1407 con el cual comparten además los niveles bajos de sensibilidad a cefalosporinas. Estos ST, por tanto, podrían poseer una elevada capacidad de diseminación y un alto potencial de selección de resistencia a cefalosporinas, como ocurre con el ST1407, que debería ser tenido en cuenta en los futuros estudios de vigilancia epidemiológica.

La limitación principal del estudio es que todas las cepas procedieron del área de Barcelona y, por tanto, las conclusiones son representativas de este territorio. En contraposición hay que resaltar que es una muestra importante numéricamente difícil de disponer actualmente, entre otras razones porque desde la introducción del diagnóstico de la gonococia por PCR muchos laboratorios utilizan exclusivamente esta técnica.

En este sentido, habría que plantearse en qué situaciones es necesario el cultivo de NG o solamente su detección por PCR. Una actuación coste-beneficio equilibrada sería practicar exclusivamente la PCR en los pacientes asintomáticos en los que se realiza cribado (revisiones en colectivos de riesgo, estudios poblacionales, etc.), ya que si fuera positiva se les podría tomar muestra para cultivo y así estudiar su sensibilidad antimicrobiana. En cambio, a

los pacientes sintomáticos o a los contactos de pacientes diagnosticados de gonococia se les practicaría PCR y cultivo, ya que son tributarios de tratamiento empírico in situ.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- Unemo M, Shafer WM. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: Origin, evolution, and lessons learned for the future. *Ann N Y Acad Sci*. 2011;1230:E19–28.
- Unemo M, Dillon JA. Review and international recommendation of methods for typing *Neisseria gonorrhoeae* isolates and their implications for improved knowledge of gonococcal epidemiology, treatment, and biology. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24:447–58.
- Department of Health and Human Services CfDCaP. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2007. Atlanta, Georgia; 2008. p. 17–31.
- Department of Health and Human Services CfDCaP. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2009. Atlanta, Georgia; 2010. p. 17–31.
- Health Protection Agency Centre for Infections ESOSTI Sexually Transmitted Infections Surveillance in Europe, Annual Report No. 3 2008. London [consultado 30 Sep 2012]. Disponible en: [http://ec.europa.eu/health/ph\\_projects/2004/action2/docs/2004\\_2\\_08\\_a1\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_projects/2004/action2/docs/2004_2_08_a1_en.pdf)
- Epidemiología CND Vigilancia epidemiológica de las infecciones de transmisión sexual, 1995–2009. Madrid, 2011 [consultado 25 Sep 2012]. Disponible en: [http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/VigilanciaITS1995\\_2009.pdf](http://www.msssi.gob.es/ciudadanos/enfLesiones/enfTransmisibles/sida/vigilancia/VigilanciaITS1995_2009.pdf)
- Health Protection Agency TGRASP GRASP 2010 Report. London 2011 [consultado 30 Sep 2012]. Disponible en: [http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb\\_C/1316016752917](http://www.hpa.org.uk/webc/HPAwebFile/HPAweb_C/1316016752917)
- Bignell C, FitzGerald M. UK national guideline for the management of gonorrhoea in adults, 2011. *Int J STD AIDS*. 2011;22:541–7.
- Cámara 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.
- Carnicer-Pont D, Smithson A, Fina-Homar E, Bastida MT. First cases of *Neisseria gonorrhoeae* resistant to ceftriaxone in Catalonia, Spain, May 2011. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30:218–9.
- CLSI Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Test; Twenty-First Informational Supplement, 31: 92–94 [consultado 15 Mar 2012]. Disponible en: <http://www.rsu.ac.th/medtech/files/CLSI%202011.pdf>
- EUCAST Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters, Version 2.0: p. 50–53 [consultado 15 Mar 2012]. Disponible en: [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Breakpoint\\_tables/Breakpoint\\_table\\_v.2.0.120221.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/Breakpoint_table_v.2.0.120221.pdf)
- 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.
- Kidd S, Kirkcaldy R, Ye T, Papp J, Trees D, Shapiro SJ. Cephalosporin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* public health response plan. Division of STD Prevention; National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention; Centers for Disease Control and Prevention; 2012.
- Tapsall J, Read P, Carmody C, Bourne C, Ray S, Limnios A, et al. Two cases of failed ceftriaxone treatment in pharyngeal gonorrhoea verified by molecular microbiological methods. *J Med Microbiol*. 2009;58:683–7.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Response plan to control and manage the threat of multidrug-resistant gonorrhoea in Europe. Stockholm: ECDC; 2012.
- Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhoea?: Detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55:3538–45.
- Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Galloway A, Sednaoui P, et al. 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.
- Unemo M, Golparian D, Stary A, Eigentler A. First *Neisseria gonorrhoeae* strain with resistance to cefixime causing gonorrhoea treatment failure in Austria, 2011. *Euro Surveill*. 2011;16:pii: 19998.
- Courvalin P, Leclercq R, Rice L. *Antibiogramme*. 2.<sup>a</sup> ed. Paris: ESKA; 2006. p. 429–35.