

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Medikuntzako Gradua / Grado en Medicina

Estudio clínico y epidemiológico de un brote causado por *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a Linezolid en el Hospital Universitario Donostia

Egilea /Autor:
Sara Loidi Guerrica-Echevarría
Zuzendaria / Director/a:
Diego Vicente Anza

© 2023, Sara Loidi Guerrica-Echevarría

ÍNDICE

RESUMEN.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Linezolid.....	1
1.2. Mecanismos de resistencia a linezolid.....	3
1.3. <i>Staphylococcus</i> y linezolid.....	7
1.3.1. Generalidades.....	7
1.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	7
1.3.3. <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativas (SCN)	8
1.4. Epidemiología de la resistencia a linezolid.....	10
1.5. Brote causado por <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativa resistente a linezolid en el Hospital Universitario Donostia.....	10
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVO.....	12
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	13
4. RESULTADOS.....	15
4.1. Distribución demográfica.....	16
4.1.1. Sexo y edad.....	16
4.2. Características de los episodios.....	16
4.2.1. Valor clínico.....	16
4.2.2. Lugar de aislamiento de las cepas.....	17
4.3. Características microbiológicas.....	18
4.3.1. Especies y tipos de resistencias.....	18
4.4. Letalidad.....	20
5. DISCUSIÓN.....	21
6. CONCLUSIÓN.....	25
7. BIBLIOGRAFÍA.....	26

RESUMEN

Introducción: Linezolid es un antibiótico sintético y bacteriostático de la familia de las oxazolidinonas, con amplio espectro, especialmente útil para el tratamiento de infecciones graves por bacterias gram positivas. Su mecanismo de acción consiste en inhibir la síntesis proteica de la bacteria al fijarse al dominio V del ARN ribosómico 23S de la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos. Se han descrito tres tipos de mecanismos de resistencia principales por parte de los *Staphylococcus*: mutaciones puntuales en la región del dominio V de los genes del ARNr 23S, la adquisición del gen de la metiltransferasa ribosomal *cfi* y mutaciones en las proteínas estructurales ribosomales L3, L4 y L22. En mayo de 2020, se declaró el inicio de un brote causado por *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a linezolid en el Servicio de Medicina Intensiva del Hospital Universitario Donostia.

Hipótesis y objetivo: Durante la pandemia COVID fue complicado mantener las medidas de precauciones universales y de contacto y un buen uso de los antibióticos, pudiendo favorecer la aparición y diseminación de resistencias antibióticas. El objetivo fue describir y analizar el brote y las medidas adoptadas para el control del mismo y su eficacia.

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo durante el periodo de enero de 2020 a octubre de 2022. Se seleccionaron pacientes del Servicio de Medicina Intensiva del HUD con infección y/o colonización por *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a linezolid en muestras para cultivo microbiológico de cualquier origen. Se recogieron variables demográficas, del episodio y microbiológicas. Para la identificación de las cepas se utilizó MALDI-TOF y para el estudio de susceptibilidad antibiótica el disco-difusión y la microdilución automatizada Vitek 2. Para la obtención de datos se utilizaron GestLab y Osabide Global. Se utilizaron estadísticos descriptivos y el test de χ^2 ($p < 0,05$).

Resultados: Se identificaron 241 episodios de infección/colonización en 229 pacientes de ambos sexos y cualquier edad (mediana 64 años y rango intercuartílico 19 años), con un pico máximo de aislamientos en mayo de 2022. Las muestras se obtuvieron principalmente de exudado de piel y sangre. Las cepas causantes del brote

pertenecieron a dos especies (*S. epidermidis* y *S. hominis*) con dos tipos de resistencias (cromosómicas o plasmídicas). El estudio de epidemiología molecular confirmó una relación clonal en cada una de las tres cepas implicadas. La gran mayoría carecieron de valor clínico y de los que produjeron clínica la mayoría dieron lugar a bacteriemias. Las cepas de *S. epidermidis* con resistencias cromosómicas fueron las que más valor clínico presentaron junto con la mayor letalidad.

Conclusión: Las bacterias resistentes están presentes en los hospitales. El uso indiscriminado de antibióticos y el no cumplimiento de las precauciones universales favorecen la selección de resistencias y diseminación de las cepas, causando brotes como el descrito en este trabajo. Para controlar esto, es importante hacer un buen uso de los antibióticos mediante una educación en prescripción antibiótica y llevar a cabo de manera idónea las precauciones universales y de contacto, haciendo especial mención a la higiene de manos, ya que estas medidas son las más eficientes.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a todas aquellas personas que me han ayudado a llevar a cabo este trabajo de fin de grado.

En primer lugar, a mi tutor Diego Vicente, por su dedicación y confianza, por haberme enseñado tanto a lo largo de todo el proceso y por haberme dado la oportunidad de realizar este trabajo.

A Iñigo Ansa, por su colaboración, sus grandes aportaciones y su constante disposición en todo lo que he necesitado.

A todos los compañeros del Servicio de Microbiología, por haberme acogido tan bien en todo momento.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LINEZOLID

Linezolid es una oxazolidinona (linezolid y tedizolid), que puede considerarse como el primer miembro de esta clase de antibióticos. Tiene actividad antimicrobiana contra las bacterias gram positivas, y dicha actividad la mantiene frente a las cepas resistentes a otros antibióticos, como el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), los *Enterococcus* resistentes a la vancomicina y especies de *Streptococcus* (1). Por lo tanto, suele reservarse para el tratamiento de infecciones bacterianas graves donde otros antibióticos han fracasado por haber generado resistencia a ellos (2).

En el año 2000 linezolid fue aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) para uso clínico. Es un antibiótico completamente sintético (**Figura 1**) y bacteriostático de acción sistémica (3).

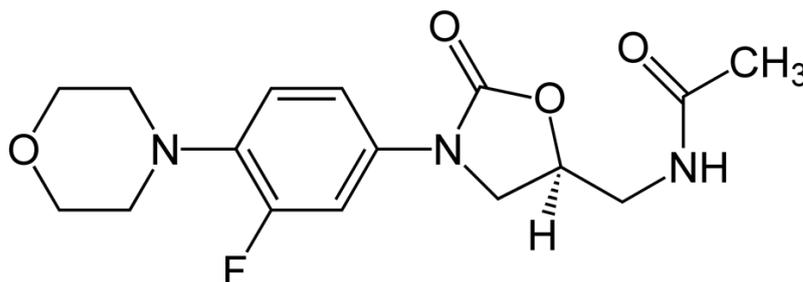


Figura 1: Estructura bioquímica de linezolid.

Su mecanismo de acción consiste en inhibir la síntesis proteica de la bacteria al impedir la formación del complejo de iniciación que da lugar a la traducción de proteínas. Inhibe la síntesis proteica al fijarse al centro de la peptidil-transferasa ribosomal (PTR) en el dominio V del ARN ribosómico 23S (ARNr) de la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos impidiendo que se forme el complejo ribosoma-fMet-tRNA (**Figura 2**) (2).

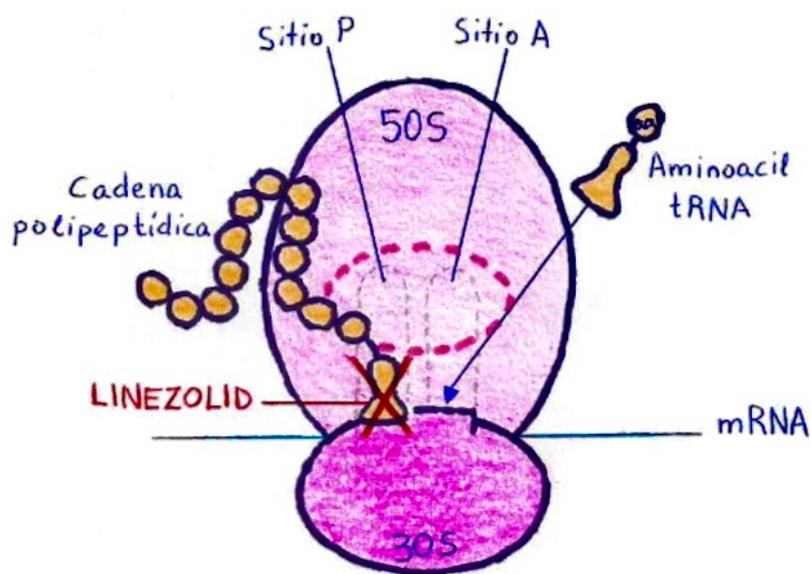


Figura 2: Mecanismo y lugar de acción de linezolid.

Linezolid es el primer miembro de la clase de agentes antimicrobianos de la oxazolidinona, que ha demostrado una buena eficacia contra los patógenos gram positivos multirresistentes. Casi dos décadas después de su introducción en el uso clínico, linezolid sigue siendo activo contra el 99% de las bacterias gram positivas. No es adecuado para combatir las bacterias patógenas gram negativas, ya que son intrínsecamente resistentes debido a las bombas de expulsión que obligan al linezolid a salir de la célula más rápido de lo que puede acumularse (4).

Linezolid es uno de los pocos antibióticos verdaderamente nuevos que se han introducido en muchos años, ya que la mayoría de los recién llegados son derivados de medicamentos existentes (4). Por eso, cuando se introdujo en el año 2000, se pensó que, debido a su mecanismo de acción único y a que no estaba relacionado estructuralmente con otra familia conocida de agentes antimicrobianos, sería difícil que las bacterias desarrollaran resistencia. Sin embargo, un año después de su introducción, se notificó el primer aislado de *S. aureus* resistente a linezolid que mostraba la mutación G2576T en el ARNr 23S. Desde entonces, varios estudios han descrito la aparición de resistencias a linezolid en *Staphylococcus spp.* en todo el mundo (2).

Dada la importancia de linezolid como agente antimicrobiano de último recurso en medicina, es fundamental evaluar los mecanismos moleculares de resistencia actuales y, especialmente, la presencia de cepas portadoras de estos genes de resistencia a linezolid en el ámbito clínico (2,4).

1.2. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LINEZOLID

La eficacia de linezolid contra los cocos gram positivos y su favorable perfil de seguridad a corto plazo han promovido su uso generalizado, lo que a su vez conduce teóricamente a la aparición y diseminación de las resistencias a linezolid (5).

Se han descrito tres tipos de mecanismos de resistencia principales relacionados sobre todo con pequeñas alteraciones en el sitio de unión del antibiótico en el ribosoma. Las dividimos en dos grupos, cromosómicas (mutaciones ribosómicas y mutaciones de las proteínas estructurales ribosomales) y plasmídicas (las mediadas por el gen *cfir*). Se describen a continuación:

- **Mutaciones ribosómicas:**

Linezolid se une al sitio A (aminoacil) de la subunidad 50S del ribosoma, próximo al centro activo. Inhibe la iniciación de la síntesis de proteínas de la bacteria mediante unión al dominio V del ARN ribosomal (ARNr) 23S (posiblemente implica competición con otros sustratos que intentan entrar en el sitio A) (**Figura 3**) (1,2,4).

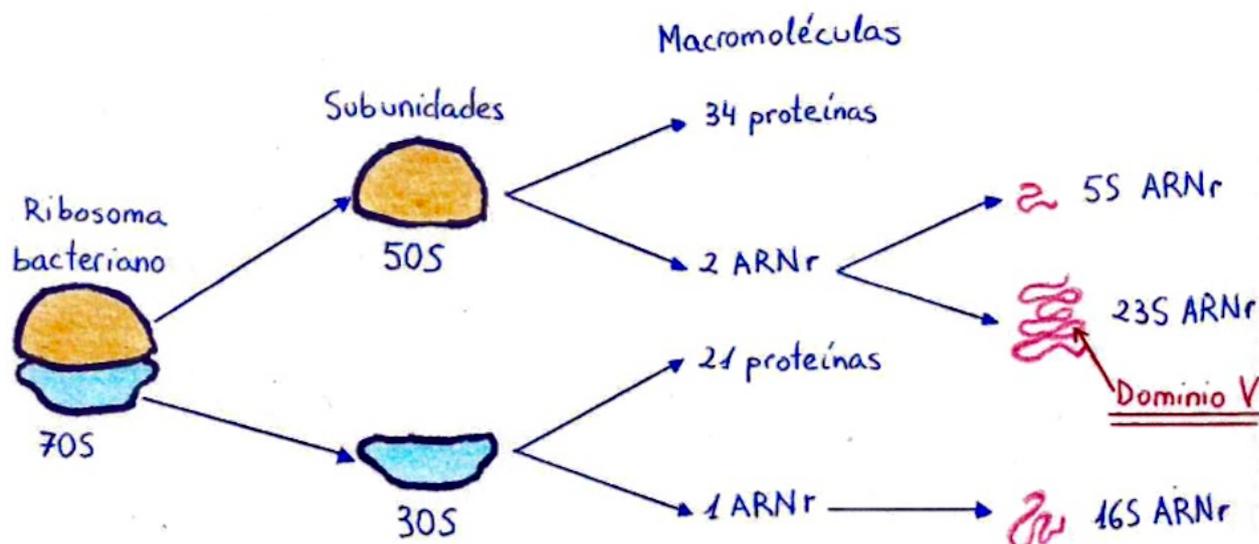


Figura 3: Lugar de acción de linezolid.

Los primeros aislados de microorganismos gram positivos resistentes a linezolid aparecieron durante los ensayos preclínicos. En el año 2001 se describió la primera resistencia a linezolid (6).

El mecanismo de resistencia más frecuentemente comunicado es una mutación puntual en un nucleótido del peptidil-transferasa ribosomal (PTR) del sitio de unión del antibiótico en el dominio V del ARNr 23S (2), siendo la mutación G2576T la más frecuente, aunque se han descrito otras como C2190T, T2502A, C2532T y G2603T (7,8,9). Además, in vitro se han descrito una gran variedad de mutaciones en el dominio V del ARNr 23S en *S. aureus*, como C2192T, G2447T, A2503G, T2504C, G2505A y G2766T. Se ha observado una clara correlación entre el número de operones de ARNr mutados y el grado de resistencia objetivado por el valor de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de linezolid. Estas mutaciones requieren una generación de novo, por lo que la frecuencia de resistencia es baja. Además, en *Staphylococcus* existe una redundancia de los genes de ARNr (5-6 copias en *S. aureus*) y no existe transferencia genética horizontal (4). Este tipo de mecanismo de resistencia, como consecuencia de mutaciones, genera un alto nivel de resistencia en las cepas (CMIs elevadas) que lo presentan (1).

La presencia en sí misma de la mutación, no conlleva por defecto la aparición de infecciones por cepas resistentes. Lo que sucede es que la administración de linezolid, especialmente de forma masiva, conlleva la selección de las cepas resistentes, que en posteriores episodios son responsables de las infecciones. La mayoría de los informes de la mutación G2576T en aislamientos clínicos están asociados con alguna forma de tratamiento con linezolid aumentado o prolongado o con un alto uso de linezolid en el hospital local, lo que subraya la importancia del uso juicioso de linezolid en entornos clínicos (4,10).

- **Resistencia a linezolid mediada por el gen *cfr*:**

Posteriormente fue descrita la resistencia a linezolid por la presencia del gen *cfr*. Fue descrito en el año 2000 en *Staphylococcus* aislados en animales: *S. sciuri* (cepa bovina), *S. simulans* (cepa bovina), *S. aureus* (cepa porcina) (11). Desde entonces, se ha informado de la presencia de *cfr* en bacterias gram positivas y gram negativas de diversos orígenes. El gen *cfr* codifica una metiltransferasa que metila un nucleótido específico, A2503, en la diana de unión de linezolid (dominio V del 23S ARNr) (7). Por lo tanto, la resistencia generalmente ocurre ya sea por la inactivación de una metiltransferasa autóctona o por la adquisición de una metiltransferasa resistente a los antibióticos (4). La metilación confiere resistencia a cinco clases de agentes antimicrobianos (denominado fenotipo PhLOPS A): fenicoles (cloranfenicol), lincosamidas, oxazolidinonas, pleuromutilinas (retapamulina) y estreptogramina A, dando lugar a un fenotipo de multirresistencia. Está asociado a elementos genéticos móviles (plásmidos) por lo que existe transferencia horizontal. La resistencia a linezolid mediada por estos plásmidos normalmente es de bajo nivel, pero epidemiológicamente muy preocupante por su gran capacidad de diseminación a cepas de la misma especie, o cepas de especies diferentes. La presencia de *cfr* en elementos genéticos móviles como plásmidos y transposones en diferentes ubicaciones geográficas sugiere fuertemente que puede diseminarse dentro de la comunidad microbiana y propagarse entre bacterias patógenas (4,12).

Más recientemente, se han descrito otras dos proteínas similares a *Cfr*, *Cfr (B)* y *Cfr (C)*, en *Enterococcus faecium* y *Clostridium difficile*, respectivamente (12). También, se han descrito los genes *optrA* y *poxxA* en *Enterococcus spp.* y *S. aureus*,

respectivamente. Ambos genes confieren una menor susceptibilidad a las oxazolidinonas y a los fenicoles. Además, el gen *poxA* disminuye la susceptibilidad a las tetraciclinas (2).

- **Otras mutaciones ribosomales:**

Además de los dos mecanismos descritos, existe también una mutación en las proteínas estructurales ribosomales L3 (gen *rplC*), L4 (gen *rplD*) y L22 (gen *rplV*) las cuales también están relacionadas con una disminución de la sensibilidad de *Staphylococcus spp.* a las oxazolidinonas (**Figura 4**). Este tipo de cambios son menos frecuentes y menos importantes epidemiológicamente (1,2,4,8,12).

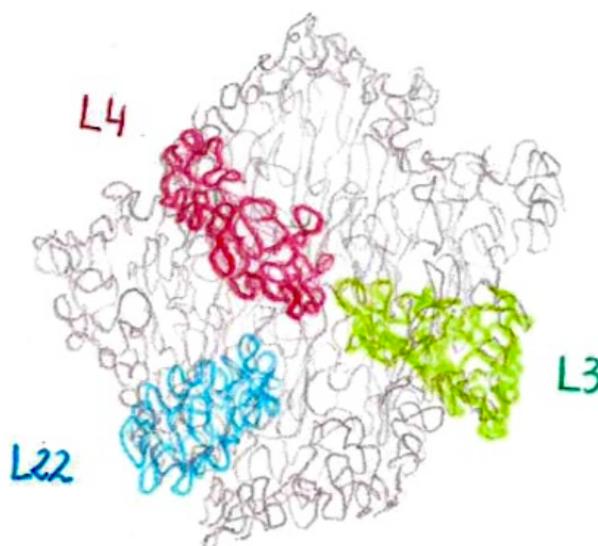


Figura 4: Proteínas estructurales ribosomales relacionadas con la resistencia a linezolid.

La combinación de dos o más mecanismos en una cepa de *Staphylococcus spp.* produce una elevación notable de la CMI a linezolid. Se ha observado una elevación de la CMI de linezolid en especies de *S. epidermidis* portadoras del gen *cfi* como consecuencia de la asociación con mutaciones en la proteína ribosomal L3. Se necesitan estudios de mutagénesis dirigida y expresión heteróloga para vincular de manera concluyente estas mutaciones con la resistencia a la oxazolidinona (4).

1.3. STAPHYLOCOCCUS Y LINEZOLID

1.3.1. Generalidades

El termino *Staphylococcus* viene de la palabra griega *Staphyle* que significa racimo de uvas y *coccus* que significa granos (1).

El género *Staphylococcus* está constituido por cocos gram positivos. El nombre del género hace referencia a que estos cocos se agrupan en racimos o tétradas, sin embargo, en muestras clínicas aparecen como células aisladas en pares o cadenas cortas. La mayor parte de los *Staphylococcus* tienen un diámetro de entre 0,5 y 1 μm y son aerobios y anaerobios facultativos, inmóviles, con pocos requerimientos nutricionales, resisten la desecación, toleran concentraciones elevadas de sal y crecen en medios de cultivo convencionales. Dan positiva la reacción de la catalasa (a diferencia de los *Streptococcus* que son catalasa negativos). En la actualidad, el género comprende 40 especies y 24 subespecies, son colonizadores ubicuos de la piel y mucosas de casi todos los animales, incluyendo mamíferos y aves. Los *Staphylococcus* conforman un importante grupo de patógenos en el hombre y originan un amplio espectro de enfermedades sistémicas, infecciones de la piel, tejidos blandos, huesos, aparato genitourinario e infecciones oportunistas (1).

1.3.2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus tiene la capacidad de coagular el plasma (coagulasa positiva), es la principal característica que lo diferencia del resto de las especies que se conocen comúnmente como *Staphylococcus* coagulasa negativas y por ello, esta característica se utiliza como prueba diagnóstica en los laboratorios de microbiología clínica. El reservorio natural de *S. aureus* es la fosa nasal del ser humano. *S. aureus* es el más importante en patología infecciosa humana y el miembro más virulento y más conocido del género. En medios con sangre las colonias de *S. aureus* presentan una consistencia cremosa, se pigmentan de amarillo o dorado y se rodean de un halo de β -hemólisis o hemólisis completa (1).

Aproximadamente, el 30% de los adultos sanos es portador de *S. aureus* en nasofaringe, aunque existe una incidencia más elevada en pacientes hospitalizados, personal sanitario, y sujetos aquejados de enfermedades eccematosas de la piel. En neonatos es frecuente la colonización del ombligo, piel y región perianal con *S. aureus*. La diseminación de bacterias es frecuente y la responsable de muchas infecciones adquiridas en el hospital como consecuencia de la presencia de los *Staphylococcus* en la piel y en la nasofaringe. Pueden sobrevivir en superficies secas durante periodos de tiempo prolongados y se pueden transferir a una persona vulnerable por contacto directo o a través de fómites (1).

1.3.3. *Staphylococcus coagulasa negativas* (SCN)

Los *Staphylococcus coagulasa negativas* (SCN) son una parte importante de la flora normal de la piel humana. *S. epidermidis* es el miembro más importante y más estudiado de los *Staphylococcus coagulasa negativas* y del que más conocimientos se tienen en la actualidad en cuanto a mecanismos moleculares de virulencia. Es uno de los colonizadores más abundantes de la piel humana, durante mucho tiempo fue considerado como inocuo, pero en la actualidad se reconoce como un patógeno oportunista importante ya que se ha identificado como la causa más frecuente de las infecciones relacionadas con dispositivos como catéteres, prótesis, etc., cada vez más empleados en el ámbito hospitalario y en especial en pacientes de unidades de críticos. La definición de factores de virulencia es amplia, ya que comprende los genes y proteínas que facilitan la infección y la persistencia en el cuerpo humano, pero la mayoría de estos factores también tienen un papel importante en la vida comensal de *S. epidermidis* como un microorganismo inofensivo de la piel humana y no pueden por tanto ser considerados como "factores de virulencia" en sentido estricto (1).

A excepción de la endocarditis de válvulas naturales y algunas infecciones de catéteres de diálisis peritoneal, prácticamente todas las infecciones por SCN con excepción de *S. saprophyticus* (infección de las vías urinarias) se adquieren en el hospital. Las cepas hospitalarias de *S. epidermidis* presentan resistencia a múltiples antibióticos, la colonización de pacientes y del personal sanitario por estas cepas precede a la infección por estos microorganismos. Probablemente, los microorganismos acceden a los

cuerpos extraños por inoculación directa durante la inserción y la subsiguiente manipulación del dispositivo, así como por la contaminación de las conexiones y vías de acceso de los catéteres.

Los SCN aislados en infecciones de origen nosocomial, en especial *S. epidermidis* y *S. haemolyticus*, son habitualmente resistentes a múltiples antibióticos, con más de un 80% de cepas resistentes a la meticilina y, por lo tanto, resistentes a todos los antibióticos betalactámicos. *S. epidermidis* resistente a meticilina, se encuentra entre un 75-90% a nivel mundial. Más del 50% de las cepas de *S. epidermidis* y *S. haemolyticus* de origen nosocomial son resistentes a aminoglucósidos y macrólidos, y en menor medida a tetraciclina, cloranfenicol y clindamicina. Al igual que en *S. aureus*, prácticamente todas las cepas de *S. epidermidis* producen β -lactamasa. Debido a la generalizada multiresistencia, los antibióticos más utilizados para el tratamiento de las infecciones por SCN de origen nosocomial son antibióticos de amplio espectro como los glucopéptidos (vancomicina) y oxazolidonas (linezolid). Las cepas con resistencia intermedia a vancomicina, van en aumento, sin embargo, no se ha descrito la diseminación de cepas con resistencia de alto nivel a vancomicina. *S. haemolyticus* fue el primer SCN en mostrar resistencia a la vancomicina, aunque actualmente *S. epidermidis* ha evidenciado una sensibilidad disminuida a glucopéptidos (1). La resistencia de SCN a daptomicina y tigeciclina es rara o poco frecuente. Linezolid es el tratamiento de elección en muchos casos de infección causada por SCN.

Linezolid presenta ventajas farmacocinéticas y farmacodinámicas respecto a otros antibióticos de amplio espectro para gram positivos, especialmente frente a vancomicina. Los glucopéptidos (vancomicina) se administran por vía parenteral, necesitan ajuste de dosis en insuficiencia renal, y suele ser necesario disponer niveles séricos del fármaco para monitorizar su actividad. Sin embargo, linezolid se puede administrar por vía oral, no necesita ajuste de dosis en insuficiencia renal y presenta un perfil de seguridad adecuado para el manejo de infecciones en pacientes graves. **Por este motivo, linezolid constituye en la actualidad un fármaco de primera elección para el tratamiento empírico en pacientes graves con sospecha de infección causada por bacterias gram positivas.**

1.4. EPIDEMIOLOGÍA DE LA RESISTENCIA A LINEZOLID

Hace una década, la resistencia a linezolid era rara o poco frecuente, sin embargo, en la actualidad cada vez es más común la presencia de microorganismos gram positivos (SCN y en particular *S. epidermidis*) resistentes a linezolid. La presencia de estas cepas es habitual en las unidades de críticos de los hospitales, en muchos casos simplemente como colonizadores, pero también como verdaderos agentes causales de infección. La aparición de resistencias puede darse en casos aislados por tratamientos prolongados con linezolid, o en muchos casos, en forma de brotes debido a la presencia del gen *cfrr* como principal mecanismo de resistencia a linezolid, que tiene capacidad de transferencia horizontal. Los *S. epidermidis* resistentes a linezolid se observan cada vez más en países europeos, como Portugal, Alemania, Grecia, Italia, Irlanda, Francia y España (8). Las tasas de resistencia varían ligeramente en cada país. Los datos de vigilancia recientes indican que menos del 1% de los *Staphylococcus aureus* y menos del 2% de los *Staphylococcus coagulasa negativa* son resistentes a linezolid (5,10,12). Una tasa de utilización de linezolid de ≥ 13 dosis diarias definidas (DDDs)/100 pacientes-día puede ser el umbral necesario para generar un brote (3,5,7).

1.5. BROTE CAUSADO POR STAPHYLOCOCCUS COAGULASA NEGATIVA RESISTENTE A LINEZOLID EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DONOSTIA

Desde 2010 existe una circulación endémica de cepas de *S. epidermidis* resistentes a linezolid en el Hospital Universitario Donostia (HUD). Esporádicamente aparecen aislamientos de estas características normalmente como colonizantes sin valor clínico. Tras el comienzo de la pandemia causada por COVID, se observó un incremento inusual en el número de aislamientos de *S. epidermidis* resistentes a linezolid especialmente en el Servicio de Medicina Intensiva de nuestro hospital. El Servicio de Microbiología alertó al Servicio de Medicina Preventiva de esta anormal situación, y se puso en marcha el protocolo de brotes del hospital. Se declaró el inicio del brote en mayo de 2020. Durante casi dos años se pusieron en marcha medidas de vigilancia y control para disminuir la incidencia, hasta julio de 2022, momento en el que se

suspendió la actividad extraordinaria, dando por terminado el brote. A día de hoy existe una baja endemicidad, sin acúmulo de casos, manteniéndose una vigilancia activa por parte de Microbiología y Preventiva.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVO

Existe una circulación endémica de cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa resistentes a linezolid. Esta resistencia de momento no ha generado un problema clínico importante, mayoritariamente colonizaciones. Si no existe un control adecuado, puede ser un problema grave, tanto por la expansión de la resistencia mediante plásmidos transferibles a otras especies, como por la aparición de infecciones por cepas resistentes a linezolid con pocas opciones terapéuticas. Nuestra **hipótesis** es que durante la pandemia COVID fue complicado mantener las medidas de precaución universales para el control de las resistencias antibióticas. Además, el programa de política antibiótica se vio entorpecido por el difícil manejo de los pacientes, que muchas veces necesitaron antibióticos de amplio espectro. Estas circunstancias, pudieron favorecer la aparición de brotes como el descrito en este trabajo. Es de vital importancia mantener la vigilancia de microorganismos multirresistentes con capacidad de propagarse, y de transmitir esas resistencias a otros microorganismos generando situaciones difíciles de controlar por las limitaciones antibióticas presentes en medicina por el momento.

El **objetivo** principal de este trabajo fue describir un brote causado por *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a linezolid en el Servicio de Medicina Intensiva del HUD durante el periodo 2020-2022. Los objetivos concretos fueron analizar el número de casos, las cepas causantes del brote y sus mecanismos de resistencia, las características demográficas de los pacientes afectados, la evolución de los mismos, los factores de riesgo asociados, y las medidas adoptadas para el control del brote y su eficacia.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio descriptivo retrospectivo de un brote causado por *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a linezolid en el Servicio de Medicina Intensiva del HUD durante el periodo de enero de 2020 a octubre de 2022.

Se tuvieron en cuenta una serie de criterios de inclusión y exclusión. En cuanto a los criterios de inclusión, se seleccionaron pacientes del Servicio de Medicina Intensiva del HUD con infección y/o colonización por *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a linezolid en muestras para cultivo microbiológico de cualquier origen. Se excluyeron los pacientes con aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a linezolid fuera del Servicio de Medicina Intensiva del HUD y los aislamientos repetidos de la misma cepa, es decir, solo se seleccionó el primer aislamiento por paciente.

Se recogieron variables demográficas, variables del episodio y variables microbiológicas. Las variables demográficas analizadas fueron el sexo y la edad de los pacientes. En cuanto a las variables del episodio, se recogió el tipo de muestra clínica del aislamiento, la fecha de dicho aislamiento, el valor clínico bien como infección o bien como colonización y la evolución de los pacientes (letalidad a los 30 días). Por último, las variables microbiológicas fueron, la identificación de la especie y el tipo de resistencia a linezolid de las mismas (cromosómica o plasmídica).

Para la identificación de las cepas y el estudio de susceptibilidad antibiótica se utilizaron diferentes técnicas. La identificación de microorganismos se realizó mediante MALDI-TOF (Brucker Diagnostics, Alemania). El estudio de susceptibilidad antibiótica se realizó mediante disco-difusión y la confirmación mediante microdilución automatizada Vitek 2 (Pasteur-Biomerieux, Francia). Respecto a la identificación del fenotipo de resistencia, en las primeras cepas el mecanismo se identificó mediante el análisis molecular de los genes implicados en la resistencia a oxazolidonas. A partir de ahí, se utilizó un algoritmo basado en el perfil antibiótico de los dos tipos de resistencia. Las cepas con resistencia cromosómica, mostraron alto nivel de resistencia a linezolid junto con resistencia a rifampicina. Las

cepas con resistencia plasmídica, presentaron un nivel variable de resistencia a linezolid junto con susceptibilidad mantenida a rifampicina.

Para la obtención de datos se utilizaron diferentes fuentes de información. Entre ellas, el sistema de información del laboratorio (GestLab), a través del cual se identificaron mediante filtros las peticiones en las que se aislaron *Staphylococcus* coagulasa negativa resistentes a linezolid. Una vez recabada esta información, se utilizó Osabide Global para la obtención de los datos de los episodios y para el acceso a la historia clínica de los pacientes.

Con toda esta información, se realizó la recogida de datos en una hoja de Microsoft Excel de forma organizada y anonimizada. Se utilizaron estadísticos descriptivos para el análisis de los resultados. Las variables cualitativas se expresaron mediante porcentajes. Por otro lado, la única variable cuantitativa (la edad) se expresó mediante una medida de tendencia central (la mediana) y una medida de dispersión (el rango intercuartílico), ya que se trata de una distribución asimétrica. Para la presentación y visualización de la distribución de los datos se incluyeron gráficos de líneas, gráficos de barras y gráficos circulares. En cuanto a las pruebas para contraste de hipótesis, se utilizó el test de χ^2 para la comparación de variables cualitativas con datos independientes. Se consideró la significación estadística para aquellos resultados con valor de $p < 0,05$.

Para la realización del estudio se obtuvo la autorización del comité de ética de la investigación (CEI).

4. RESULTADOS

Durante el periodo de estudio, se identificaron 241 episodios de infección/colonización por *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a linezolid en 229 pacientes. El primer episodio se dató en febrero de 2020, con un incremento progresivo del número de casos, y picos en los meses de diciembre de 2020, abril de 2021 y octubre de 2021 hasta alcanzar el pico máximo en mayo de 2022. A partir de entonces, se apreció un descenso del número de casos dando por finalizado el brote en julio de 2022. Aunque el brote se dio por finalizado en esa fecha, en la actualidad existe una circulación endémica de cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a linezolid en nuestro hospital. El último caso de nuestro estudio se dató en octubre de 2022. Las cepas implicadas en el brote, circularon durante todos los meses de estudio, sin tener ninguna relación con la estación del año (Figura 5).

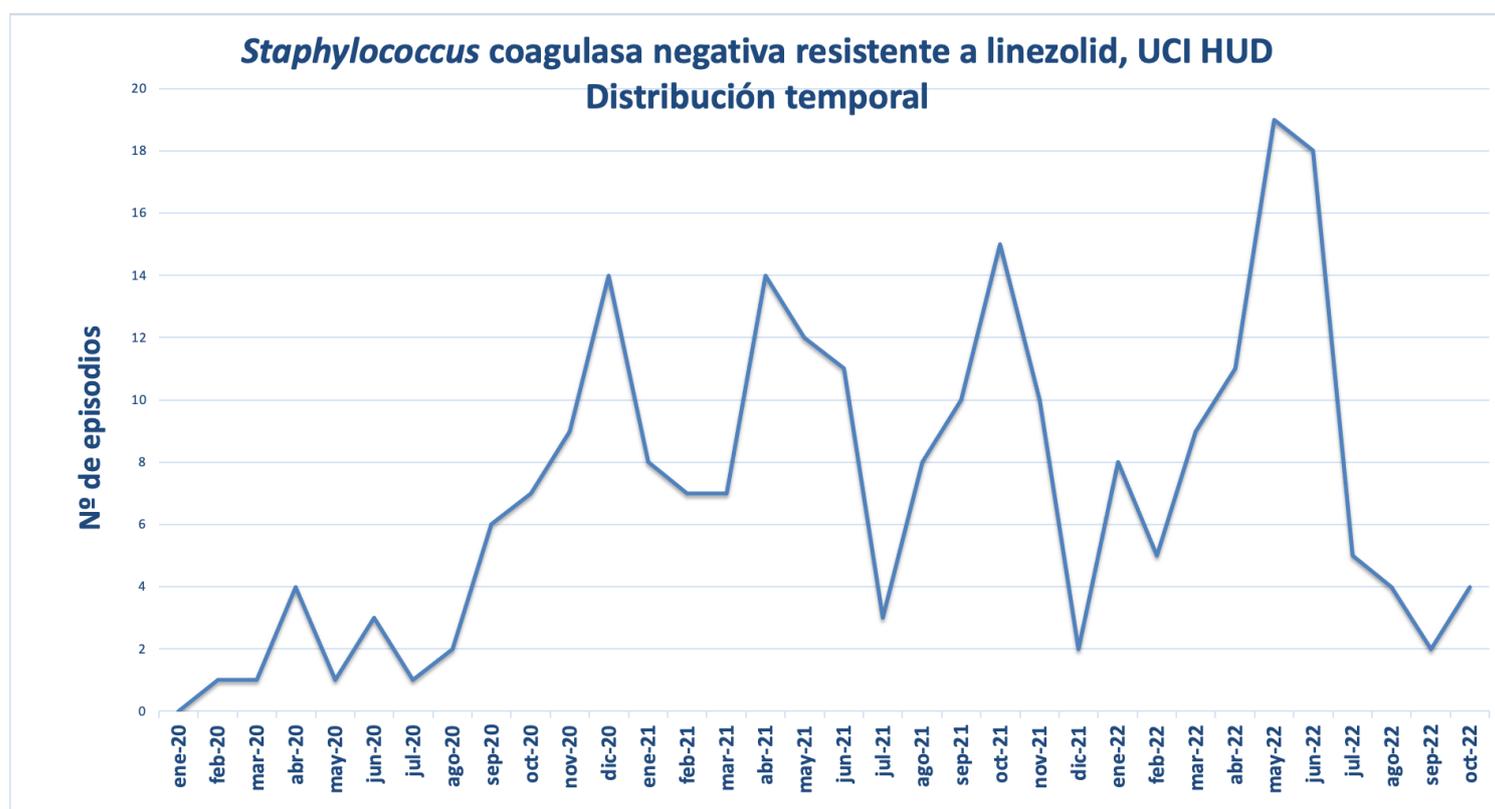


Figura 5: Distribución temporal del número de episodios del brote.

4.1. DISTRIBUCIÓN DEMOGRÁFICA

4.1.1. Sexo y edad

El 70,3% (161/229) de los casos se produjeron en hombres, y el 29,7% (68/229) en mujeres. Las cepas se aislaron en pacientes de cualquier edad, con una mediana de 64 años y un rango intercuartílico de 19 años, siendo el intervalo de edad entre 71 y 75 años el de mayor número de pacientes (**Figura 6**).

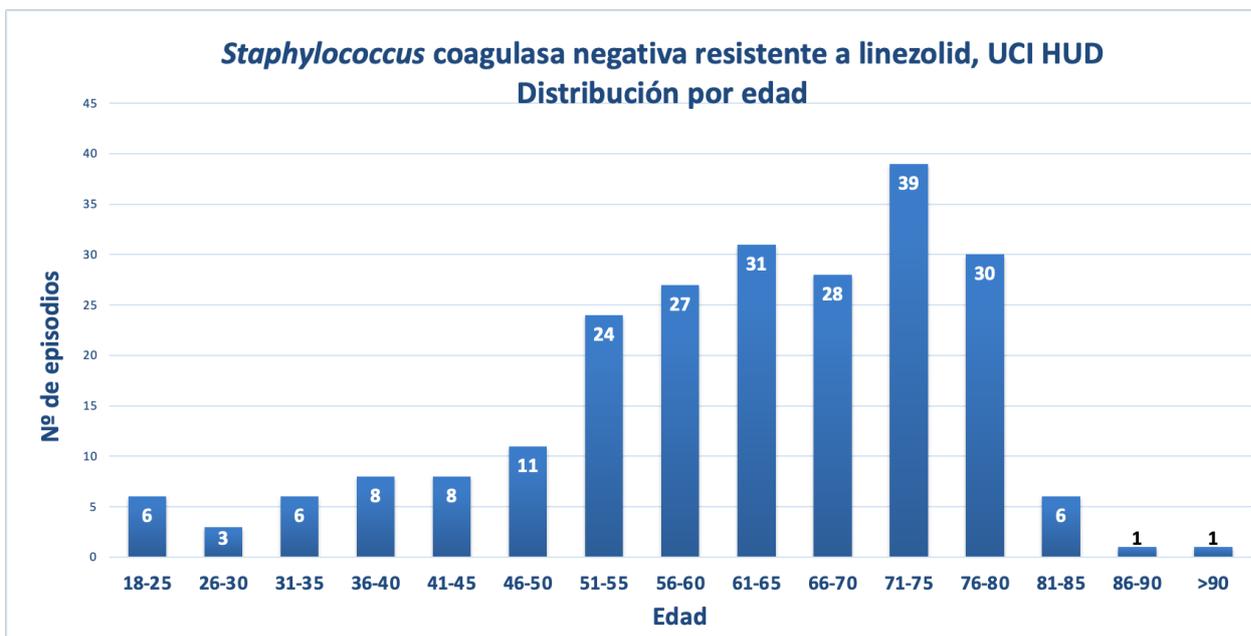


Figura 6: Distribución por edad de los pacientes.

4.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS EPISODIOS

4.2.1. Valor clínico

La gran mayoría de los aislamientos carecieron de trascendencia clínica, tratándose de meras colonizaciones. Esto se produjo en el 83% (200/241) de los episodios. Sin embargo, en el 17% (41/241) restante el aislamiento tuvo repercusión clínica. La clínica fue variada, teniendo relación con el lugar de aislamiento de las cepas. El 85,4% (35/41) dieron lugar a bacteriemias, el 7,3% (3/41) fueron infecciones postquirúrgicas peritoneales, el 4,9% (2/41) cursaron con infecciones postquirúrgicas del SNC y un episodio (2,4%) fue debido a un pie diabético (**Figura 7**).

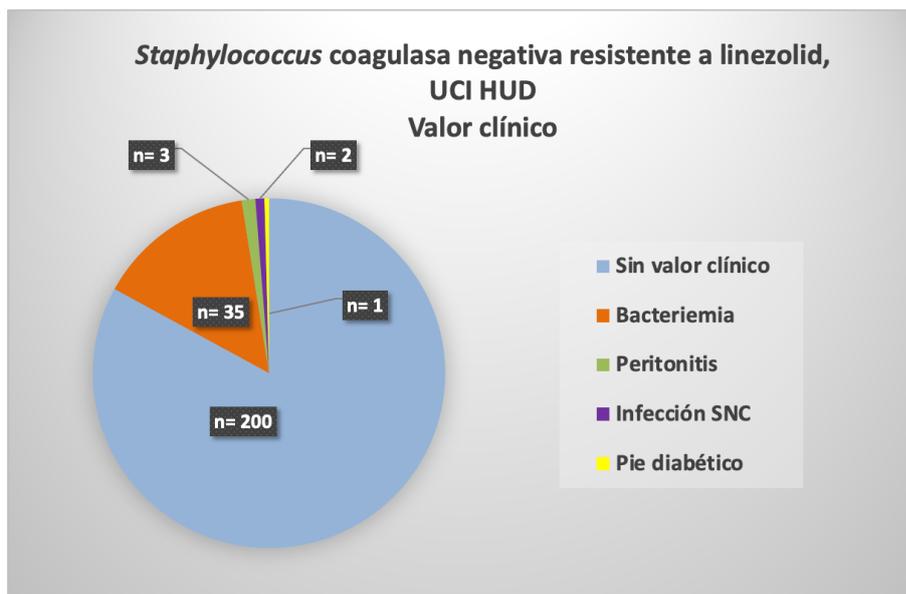


Figura 7: Valor clínico de los aislamientos.

4.2.2. Lugar de aislamiento de las cepas

El tipo de muestra se obtuvo de diferentes localizaciones siendo el exudado de piel (58,5% (141/241)) el tipo de muestra con mayor número de aislamientos seguido de la sangre (34,4% (83/241)) (**Figura 8**).

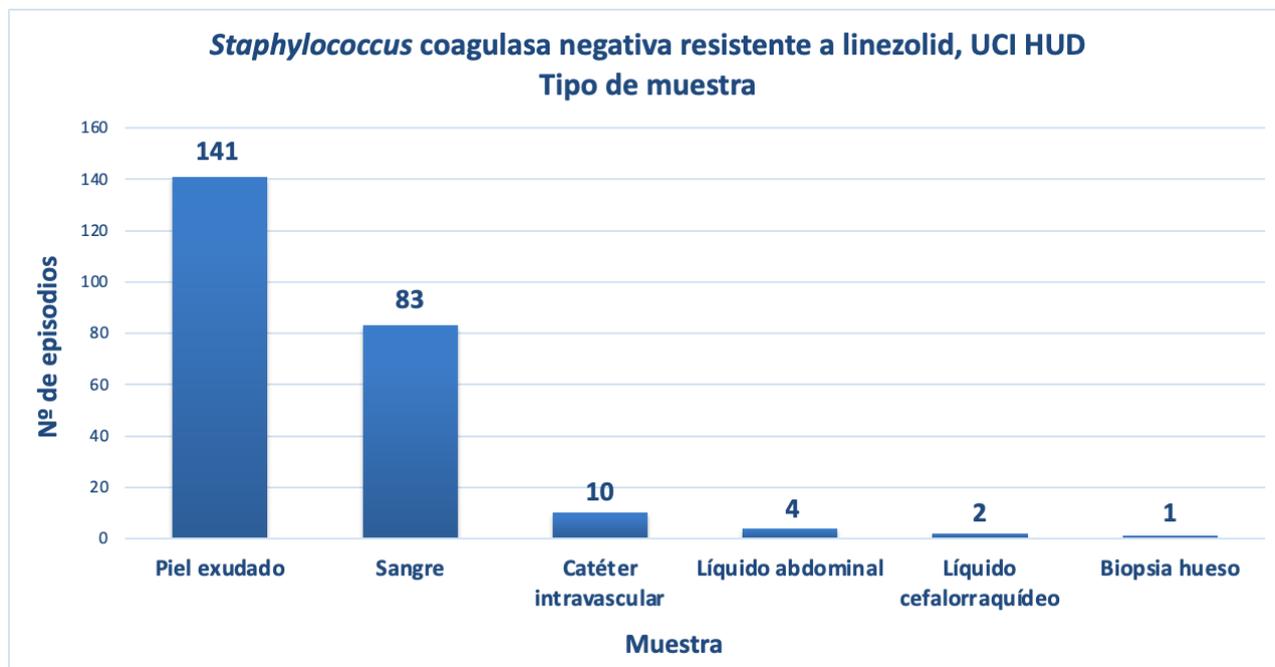


Figura 8: Tipos de muestra de donde se obtuvieron los aislamientos.

4.3. CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

4.3.1. Especies y tipos de resistencias

Las cepas de *Staphylococcus* causantes del brote pertenecieron a dos especies (*Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus hominis*). *S. epidermidis* fue el mayoritario causando el 90,9% (219/241) de los episodios y *S. hominis* se aisló en el 9,1% (22/241) de los casos.

Las cepas de *Staphylococcus* mostraron dos tipos de resistencia a linezolid (cromosómica y plasmídica). El 52,9% (126/238) de las resistencias fueron cromosómicas y el 47,1% (112/238) fueron plasmídicas. Hubo 3 aislamientos en los que no fue posible identificar el tipo de resistencia. Teniendo en cuenta la especie y el tipo de resistencia conjuntamente, el 52,9% (126/238) fueron *S. epidermidis* cromosómicos, el 37,8% (90/238) fueron *S. epidermidis* plasmídicos y la totalidad de *S. hominis* fueron plasmídicos (9,2% (22/238)).

En el Servicio de Microbiología se realizó el estudio de epidemiología molecular para establecer relación clonal entre las cepas aisladas en el brote. Este estudio confirmó una relación clonal en cada una de las tres cepas implicadas, es decir, que las cepas de *S. epidermidis* cromosómicas eran genéticamente indistinguibles (un único clon), así mismo lo fueron tanto los *S. epidermidis* plasmídicos, como los *S. hominis* plasmídicos.

Si analizamos la distribución temporal de cada especie con sus diferentes mecanismos de resistencia podemos observar que al inicio del brote únicamente se aislaron *S. epidermidis* con resistencia cromosómica. Posteriormente, se comenzaron a aislar también *S. epidermidis* con resistencia plasmídica y hacia el final del brote fue cuando se empezó a observar un incremento de aislamientos de *S. hominis* con resistencia plasmídica (**Figura 9**).

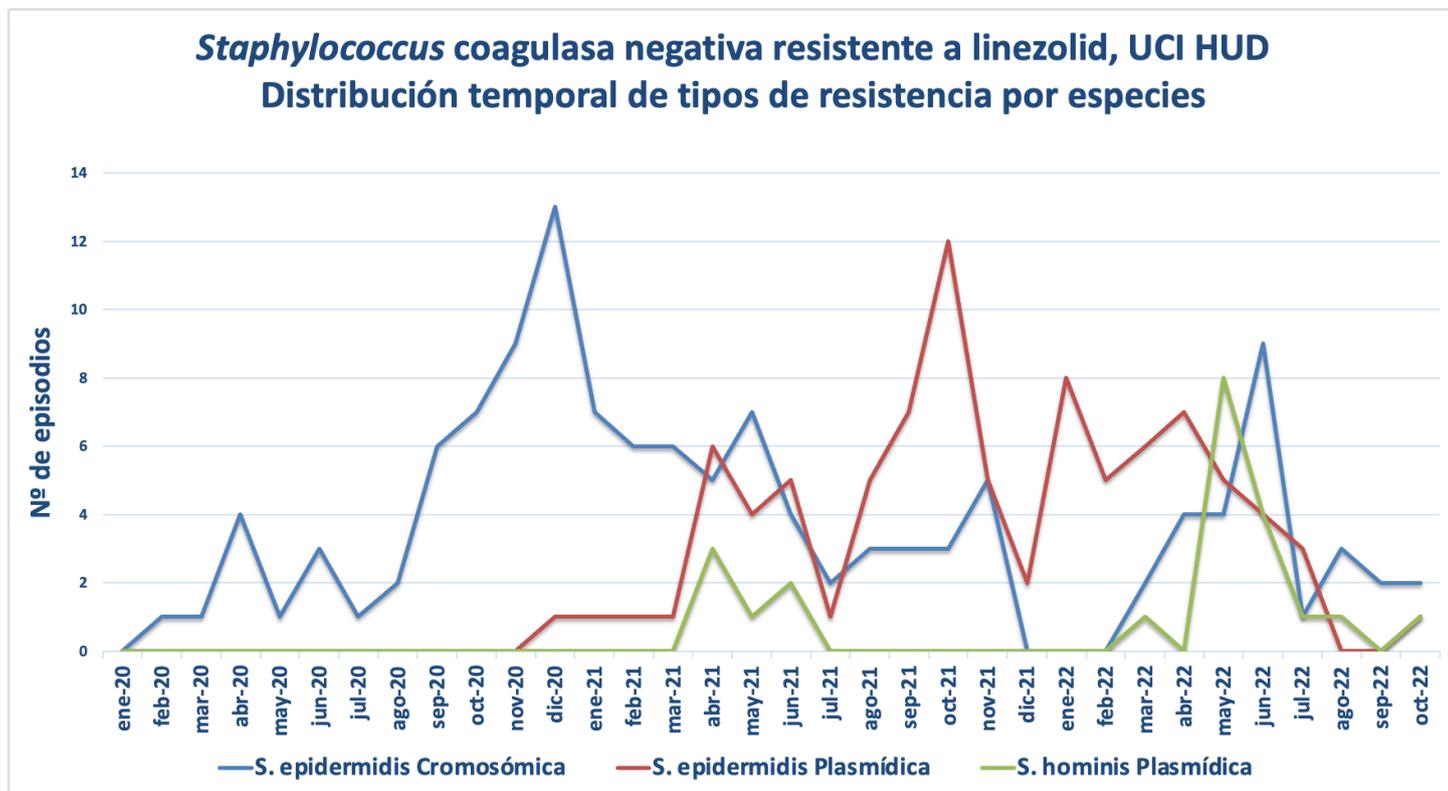


Figura 9: Distribución temporal del número de episodios teniendo en cuenta los diferentes tipos de resistencia por especies.

Se encontró una relación entre la especie y el valor clínico. El 18,7% (41/219) de los aislamientos de *S. epidermidis* tuvo repercusión clínica, mientras que ninguno (0/22) de los *S. hominis* la tuvo ($X^2=4,96$; $p=0,03$). De la misma manera, las cepas con resistencia cromosómica tuvieron mayor repercusión clínica: El 30,2% (38/126) de las cromosómicas frente al 2,7% (3/112) de las plasmídicas ($X^2=31,4$; $p<0,0001$) (**Figura 10**).

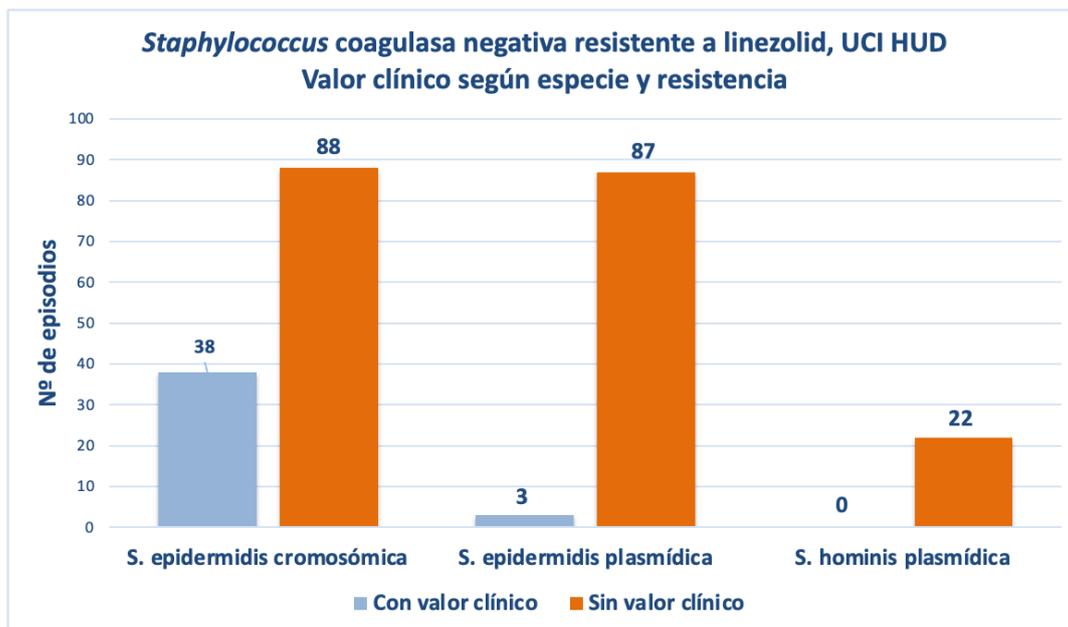


Figura 10: Valor clínico según especie y tipo de mecanismo de resistencia.

4.4. LETALIDAD

El 17,8% (43/241) de pacientes infectados/colonizados fallecieron en los 30 días siguientes al aislamiento de la cepa (**Figura 11**).

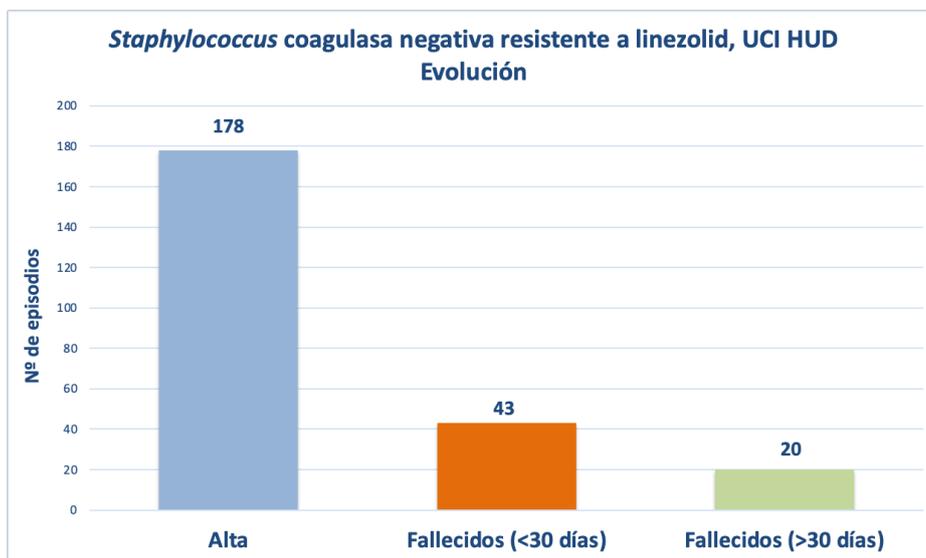


Figura 11: Evolución de los pacientes tras los aislamientos.

La letalidad entre los pacientes con infección clínica fue 39% (16/41), y entre los colonizados fue 13,5% (27/200) ($X^2 = 15,122$; $p=0,0001$).

5. DISCUSIÓN

Las resistencias antibióticas son un problema de salud pública de primer orden. Los recursos para hacer frente a este problema son limitados, y se basan sobre todo en los programas de buen uso de antibióticos, la vigilancia y el desarrollo de nuevos antibióticos con mayor espectro y actividad.

Linezolid es un antibiótico de amplio espectro especialmente útil para el tratamiento de infecciones graves por bacterias gram positivas. La aparición de resistencias a este fármaco, sobre todo por el uso excesivo del mismo, junto con la diseminación clonal de las cepas resistentes entre personas, suponen un problema grave para el tratamiento de enfermos en el hospital.

A pesar de que la situación en este momento no es grave en muchos sitios y que se trata de una situación excepcional, una serie de circunstancias hacen que sea especialmente importante vigilar esta resistencia. Entre estas circunstancias podemos destacar la existencia de una endemia de baja intensidad de cepas *Staphylococcus* coagulasa negativa resistentes a linezolid capaces de multiplicarse de forma clonal siendo diseminadas de persona a persona sobre todo por medio de las manos contaminadas del personal sanitario. También, existe la posibilidad de una transmisión horizontal a otras especies por medio de plásmidos portadores de la resistencia, problema que sería especialmente importante en el caso de *S. aureus* y *Enterococcus*, por tratarse de bacterias con mayor patogenicidad. Además, es de importancia la posibilidad de aparición de brotes, especialmente en unidades de críticos, donde hay una mayor frecuencia de infecciones por SCN.

El brote surgido en nuestro hospital ha sido, de los descritos en la literatura, el mayor a nivel nacional. Al analizar las posibles causas del brote podríamos destacar la influencia de varios factores. Principalmente, el uso excesivo de antibióticos y en este caso en concreto el uso de linezolid junto con un control inadecuado del mismo, conlleva a la selección de cepas naturalmente resistentes, que se hacen mayoritarias y disminuyen el efecto de los mismos. Al mismo tiempo, las inadecuadas precauciones universales para evitar la transmisión de microorganismos entre pacientes favorecen la diseminación de estas cepas resistentes. El mecanismo de transmisión de bacterias

entre personas es indirecto, principalmente a través de las manos del personal sanitario. Probablemente, esto se pudo ver incrementado durante la pandemia de COVID, ya que a raíz de la enorme presión asistencial durante este periodo fue complicado llevar a cabo de manera idónea las precauciones universales contribuyendo a la expansión de dichos microorganismos entre los pacientes del hospital.

Nuestros resultados sugieren que existe una relación directa entre la circulación del coronavirus y el número de aislamientos de *Staphylococcus* coagulasa negativa resistentes a linezolid. Los efectos de la pandemia en las unidades de críticos se traducen en una incapacidad para poder mantener las medidas de prevención adecuadas debido a la carga asistencial de los sanitarios y en la mayor posibilidad de aparición de brotes. Sin embargo, aunque no forma parte del estudio, en la actualidad, sin el impacto de la pandemia, la circulación de cepas de SCN resistentes a linezolid ha disminuido notablemente, gracias a la disminución de la carga asistencial y la posibilidad de mantener un buen control junto con las medidas de prevención adecuadas.

El estudio genético de las cepas muestra que en el Servicio de Medicina Intensiva del HUD circulan tres clones formados cada uno de ellos por cepas indistinguibles entre sí, lo que sugiere fuertemente, que los tres clones del brote fueron expandidos a través del personal en el Servicio de Medicina Intensiva del HUD.

La mayoría de los aislamientos carecieron de valor clínico ya que se relacionaron con colonizaciones. Sin embargo, hubo aislamientos con valor clínico siendo necesaria la búsqueda de otros antibióticos capaces de frenar las infecciones. En cuanto a las bacteriemias, la primera medida a tomar fue la retirada del catéter, junto con la administración de antibióticos en aquellos pacientes que lo requerían tras individualizar cada caso. En el caso de las peritonitis, se trató a los pacientes con vancomicina y en un caso con tigeciclina. Para la resolución del pie diabético fue suficiente con la extirpación de la pieza quirúrgica. Las infecciones del SNC resistentes a linezolid generan un gran problema, ya que hay pocos antibióticos que atraviesan la barrera hematoencefálica. El linezolid es de primera elección en estos casos, ya que no genera toxicidad en comparación con vancomicina o daptomicina (capaces también de atravesar la barrera hematoencefálica), pero en caso de resistencia

a linezolid sería necesario el uso de estos últimos siendo conscientes de los mayores posibles efectos adversos que estos producen.

Al analizar el valor clínico y el tipo de resistencia se observó que la mayoría de los *Staphylococcus* con valor clínico presentaban resistencias cromosómicas. Esto puede ser debido al fenómeno conocido como “Fitness cost”. Es decir, a la bacteria le supone tal esfuerzo adquirir la resistencia plasmídica que emplea la mayor parte de su energía en ello y como consecuencia, no le queda suficiente energía para poder producir patogenicidad, siendo las bacterias con resistencias plasmídicas menos capaces de producir valor clínico. También, debemos tener en cuenta que las cepas de *S. epidermidis* con resistencias cromosómicas son las que más valor clínico presentan junto con la mayor letalidad.

Se analizó detenidamente la distribución temporal por especies y tipo de resistencia. Al inicio del brote únicamente se aislaron *S. epidermidis* con resistencia cromosómica. Posteriormente, se comenzaron a aislar también *S. epidermidis* con resistencia plasmídica y hacia el final del brote fue cuando se empezó a observar un incremento de aislamientos de *S. hominis* con resistencia plasmídica. Esto fue sugestivo de que la resistencia de *S. hominis* fue adquirida por plásmidos transferidos por *S. epidermidis* con la mutación del gen *cfr*.

Ante esta situación a la que nos enfrentamos en nuestro hospital, fue esencial la toma de una serie de medidas preventivas para evitar la transmisión en la medida de lo posible y poder disminuir el número de aislamientos dando por finalizado el brote a pesar de mantenernos en una situación de baja endemicidad. La manera más rentable, simple y factible de prevenir la transmisión de patógenos, consiste en un enfoque de dos niveles como se describe en las pautas del Centers for Disease Control and Prevention - Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (CDC-HICPAC) (13). Las precauciones estándar representan una lista básica de precauciones de higiene diseñadas para reducir el riesgo de transmisión de agentes infecciosos relacionada con la atención sanitaria. Estas precauciones se aplican a todos los pacientes, independientemente de la existencia de agente infeccioso o no. Dentro de estas, la más importante es la higiene de manos, la cual ha demostrado tener la mayor eficiencia para el control de infecciones transmitidas por contacto.

Además de las precauciones estándar, se necesitan precauciones adicionales de barrera o aislamiento durante el cuidado de pacientes que se sospecha o se sabe que presentan colonización, o una infección con patógenos altamente transmisibles o epidemiológicamente importantes. Estas prácticas están diseñadas para contener la transmisión aérea, mediante gotas y por contacto directo o indirecto. En nuestro caso, se utilizaron las precauciones de contacto.

Otra de las medidas preventivas fundamentales para dar por finalizado el brote fue tratar de disminuir el consumo de linezolid, ofreciendo otras opciones terapéuticas. Para ello, se restringió linezolid en los informes de antibiogramas, y se monitorizaron a través del Servicio de Farmacia los pacientes bajo tratamiento con este antibiótico. Al mismo tiempo, el Servicio de Medicina Preventiva revisó los procedimientos de trabajo en el Servicio de Medicina Intensiva, reforzando todo lo relacionado con las precauciones universales y las precauciones de contacto.

Se trata de medidas poco costosas económicamente y fáciles de llevar a cabo con una buena educación. Esto no sería así si el problema siguiese creciendo, ya que nos encontraríamos en una situación difícil de controlar con estas medidas y nos veríamos obligados a recurrir a recursos mucho más costosos tanto económicamente como científicamente, por ejemplo, la investigación y el desarrollo de nuevos antibióticos con mayor espectro y actividad.

Tras llevar a cabo estas medidas de prevención por parte del personal sanitario del Servicio de Medicina Intensiva de nuestro hospital, se consiguió dar por finalizado el brote en julio de 2022. A día de hoy, existe una baja endemicidad, sin acúmulo de casos, manteniéndose una vigilancia activa por parte de Microbiología y Preventiva.

Por último, destacamos que, resulta de crucial importancia para el sistema sanitario la prevención de la diseminación y el control de la aparición de brotes de *S. aureus* y de *Staphylococcus* coagulasa negativa especialmente en las unidades de críticos de los hospitales. Ello requiere un conocimiento profundo de la epidemiología de la bacteria y su modo de propagación. Así mismo, el uso creciente de linezolid es capaz de seleccionar todavía más cepas resistentes, lo cual es importante ya que linezolid es un antibiótico de último recurso que es necesario cuidar.

6. CONCLUSIÓN

Las bacterias resistentes, como el *Staphylococcus* coagulasa negativa resistente a linezolid, están presentes en la naturaleza y, por ende, en los hospitales. Si estas cepas se seleccionan y se diseminan se convierten en un problema. La selección se ve favorecida por el uso excesivo de los antibióticos y un mal control de los mismos. Por otro lado, la diseminación se ve favorecida por la transmisión de las cepas resistentes principalmente por contacto indirecto a través del personal sanitario.

Para el control de estas dos situaciones es necesario llevar a cabo una serie de medidas preventivas. En el caso de la selección, tratar de optimizar el consumo de antibióticos, en este caso de linezolid, revisando su adecuación y ofreciendo otras opciones terapéuticas. Para evitar la diseminación, es esencial llevar a cabo de forma correcta las precauciones universales, y complementarlas cuando es necesario con las precauciones de contacto. Durante la pandemia del COVID los pacientes necesitaron recibir más cantidad de antibióticos, como el linezolid. Además, debido a la gran carga asistencial del personal sanitario y a la complejidad de los pacientes, las precauciones universales y de contacto se vieron entorpecidas. Todo ello contribuyó sin duda a la expansión del brote.

En el brote descrito en este trabajo las consecuencias clínicas para los pacientes no fueron fatales, pero este problema podría trasladarse a otras bacterias con mayor patogenicidad y tener graves consecuencias para la salud por la falta de herramientas disponibles en estos momentos para tratarlos.

Por esto, es de vital importancia hacer un buen uso de los antibióticos mediante una educación en prescripción antibiótica y llevar a cabo de manera idónea las precauciones universales y de contacto, haciendo especial mención a la higiene de manos, ya que estas medidas son las más eficientes.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Baos E. Caracterización y seguimiento de la resistencia a linezolid en *Staphylococcus epidermidis* en la unidad de cuidados intensivos del Hospital Clínico San Carlos tras la descripción del primer brote de *Staphylococcus aureus* linezolid resistente [tesis]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina; 2017.
2. Ruiz-Ripa L, Feßler AT, Hanke D, Eichhorn I, Azcona-Gutiérrez JM, Alonso CA, et al. Mechanisms of linezolid resistance among clinical *Staphylococcus spp.* In Spain: Spread of methicillin- and linezolid-resistant *S. epidermidis* ST2. *Microb Drug Resist.* 2021;27(2):145–153.
3. Mulanovich VE, Huband MD, McCurdy SP, Lemmon MM, Lescoe M, Jiang Y, et al. Emergence of linezolid-resistant coagulase-negative *Staphylococcus* in a cancer centre linked to increased linezolid utilization. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65(9):2001–2004.
4. Long KS, Vester B. Resistance to linezolid caused by modifications at its binding site on the ribosome. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(2):603–612.
5. Bouiller K, Ilic D, Wicky PH, Cholley P, Chirouze C, Bertrand X. Spread of clonal linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in an intensive care unit associated with linezolid exposure. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020;39(7):1271–1277.
6. 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 Jul 21;358(9277):207-208.
7. Mihaila L, Defrance G, Levesque E, Ichai P, Garnier F, Derouin V, et al. A dual outbreak of bloodstream infections with linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus pettenkoferi* in a liver Intensive Care Unit. *Int J Antimicrob Agents.* 2012;40(5):472–474.
8. Kosecka-Strojek M, Sadowy E, Gawryszewska I, Klepacka J, Tomasik T, Michalik M, et al. Emergence of linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in

- the tertiary children's hospital in Cracow, Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(9):1717–1725.
9. Lozano C, Aspiroz C, Gómez-Sanz E, Tirado G, Fortuño B, Zarazaga M, et al. Caracterización de cepas de *Staphylococcus epidermidis* y *S. haemolyticus* resistentes a meticilina y linezolid en un hospital español. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013;31(3):136–141.
 10. Dortet L, Glaser P, Kassis-Chikhani N, Girlich D, Ichai P, Boudon M, et al. Long-lasting successful dissemination of resistance to oxazolidinones in MDR *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates in a tertiary care hospital in France. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(1):41–51.
 11. Schwarz S, Werckenthin C, Kehrenberg C. Identification of a plasmid-borne chloramphenicol-florfenicol resistance gene in *Staphylococcus sciuri*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Sep;44(9):2530-2533.
 12. O'Connor C, Powell J, Finnegan C, O'Gorman A, Barrett S, Hopkins KL, et al. Incidence, management and outcomes of the first *cfr*-mediated linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* outbreak in a tertiary referral centre in the Republic of Ireland. *J Hosp Infect*. 2015;90(4):316–321.
 13. Centers for Disease Control and Prevention - Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (CDC-HICPAC) [Internet]. Atlanta: Cdc.gov; 2022 [consultado 3 de marzo de 2023]. CDC's core infection prevention and control practices for safe healthcare delivery in all settings. Disponible en: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/core-practices/index.html>.