

Epidemiología de la resistencia a antimicrobianos. Estudios de vigilancia de la resistencia

24

MECANISMOS GENÉTICOS, FENOTIPOS ASOCIADOS Y ESTRUCTURA POBLACIONAL EN *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* RESISTENTE A ERITROMICINA AISLADOS EN HEMOCULTIVOS (MADRID, 2000-2007)

E. Gómez G. de la Pedrosa¹, E. Loza¹, R. del Campo¹, A. Fenoll², F. Baquero¹ y R. Cantón¹

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal.

²Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III.

Objetivo: Estudiar la resistencia a macrólidos, los mecanismos genéticos y fenotipos asociados en aislados de *Strepto-*

coccus Pneumoniae procedentes de hemocultivos entre los años 2000-2007, así como la estructura poblacional de los portadores de genes *mef*, solo o en asociación con el gen *erm*(B).

Material y métodos: Se estudiaron los aislados de *S. pneumoniae* resistentes a eritromicina entre los 418 aislados recogidos. Se realizó PCR para detección de *erm*(B), *erm*(TR) y *erm*(A) y PCR-múltiple para detección y diferenciación de *mef*(A) y *mef*(E). Los fenotipos se determinaron mediante doble difusión con discos. El estudio poblacional se realizó mediante serotipado, PFGE y MLST. Se realizó un análisis de tendencia de la resistencia (Mantel-Haenszel) y los resultados obtenidos por PFGE y MLST se interpretaron mediante UPGMA, eBURST y MST.

Resultados: La resistencia a la eritromicina fue 18,6% (78/418), sin tendencia significativa a modificarse a lo largo del periodo. La distribución de genes y fenotipos fue: a) 74,3% *erm*(B), asociado a los fenotipos iMLS_B (79,3%) y cMLS_B (20,7%); b) 6,4% *mef*(E) y 1,2% *mef*(A), asociados al fenotipo M; c) 14,1% *erm*(B)+*mef*(E), asociados en un 90,9% al fenotipo iMLS_B(; d) Tres aislados (3,8%) no presentaron amplificación para los genes estudiados. Los serotipos mayoritariamente aislados fueron: 14 (17,9%), 19A (15,4%), 6B (11,5%) y 19F (7,7%). El 19A (no incluido en la vacuna conjugada heptavalente) se encontró de manera constante a lo largo de todo el periodo. Los aislados con los genes *mef* o *erm*(B)+*mef*(E) se clasificaron en 16 patrones por PFGE y se distribuyeron en 9 singleton clone, entre los que se identificaron clones internacionales multirresistentes (Spain^{9V}-3, England¹⁴-9, Sweden^{15A}-25, Tennessee¹⁴-18 y Spain^{6B}-2) y un complejo clonal. Entre los aislados pertenecientes al clon Spain^{9V}-3 se encontraron aislados *mef*(E) y *erm*(B)+*mef*(E) positivo, que presentaron switching capsular (serotipos 14 y 19F). Entre los aislados pertenecientes al clon England¹⁴-9, se encontraron los genes *mef*(E) o *mef*(A) indistintamente.

Conclusiones: La resistencia a eritromicina en aislados de *S. pneumoniae* procedentes de hemocultivo se mantiene elevada en nuestro hospital (18,6%). El gen de resistencia más prevalente fue *erm*(B) con presencia significativa de aislados con ambos genes *erm*(B)+*mef*(E). El estudio poblacional de los aislados con genes *mef* reveló una estructura poblacional policlonal presentando clones internacionales multirresistentes.

25

ELIMINACIÓN DE DUPLICADOS EN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: PRIMER AISLADO DE CADA PACIENTE VERSUS EL CRITERIO DE VARIACIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA

N. López-Riquelme, L. Soler, M. Moreno, .C. Rodríguez, M. Ruiz, P. López, I. Escribano y G. Royo

Microbiología, Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández

Objetivo: Evaluar la importancia de la utilización de diferentes criterios de eliminar duplicados en los datos de prevalencia y sensibilidad antibiótica en *Staphylococcus aureus*. **Material y métodos:** *Aislados clínicos:* Todos los aislados clínicos, tanto nosocomiales como comunitarios del Departamento de salud 20 de la Comunidad Valenciana durante 18 meses (un hospital de 450 camas y 17 centros de salud).

Criterios: a.- *Número total de aislados:* Todos los aislados del periodo estudiado. b.- *Primer aislado de cada paciente:* Criterio recomendado por CLSI. c.- *Criterio de la variación de la sensibilidad antibiótica:* El primer aislado de cada paciente y los aislados del paciente que muestren cambios de sensibilidad a oxacilina, vancomicina, ciprofloxacino, rifampicina, gentamicina y eritromicina.

Resultados: Los datos de prevalencia cambian significativamente al aplicar criterios de eliminación de duplicados, así, la aplicación del criterio recomendado por CLSI reduce un 31,1% el número de aislados clínicos del periodo respecto a los datos sin eliminación de duplicados.

Al comparar los dos criterios entre sí, se observa que el criterio de variación de la sensibilidad antibiótica detecta la presencia de 45 aislados sensibles a oxacilina (10,7%) y 24 aislados resistentes (24,4%) no detectados por el criterio del primer aislado de cada paciente; esto supone un incremento del porcentaje de resistencia a oxacilina del 1,84%. Este fenómeno es más importante en los aislados nosocomiales.

El criterio de variación de la sensibilidad antibiótica no modifica los porcentajes de resistencia a oxacilina en hemocultivos y en muestras respiratorias, pero en las infecciones de piel y tejidos blandos, los porcentajes de resistencia se incrementan del 17,8% al 22,5%.

Conclusiones: Debido a la importancia clínica de este patógeno, tanto a nivel nosocomial como recientemente, a nivel comunitario, es imprescindible aplicar un criterio de eliminación de duplicados para conocer con más exactitud la prevalencia de este microorganismo y sus tasas de resistencia. Sin embargo, nuestro trabajo muestra que el criterio recomendado por CLSI presenta limitaciones en este microorganismo y debe ser evaluado en profundidad para conocer su idoneidad, sobre todo teniendo en cuenta la gravedad de las patologías asociadas a este microorganismo y a la asociación entre mayor mortalidad y el retraso en el tratamiento correcto.

26

CAPACIDAD DE LOS CENTROS ESPAÑOLES PARA DETECTAR E INTERPRETAR EL FENOTIPO AMPC EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

C. Mata¹, M.C. Conejo², F. Navarro¹, A. Pascual², GEMARA y Control de Calidad SEIMC

¹Servicio de Microbiología. Departamento de Genética y Microbiología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona. ²Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina-Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Evaluar la capacidad de los laboratorios españoles para detectar e informar correctamente la producción de betalactamasas de clase C, tanto cromosómicas como plasmídicas, en aislados clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

Material y métodos: Se seleccionaron 3 cepas productoras de betalactamasas de clase C (1 *E. coli* hiperproductora de betalactamasa cromosómica, 1 *E. coli* productora de cefamicinasa CMY-2, 1 *K. pneumoniae* productora de cefamicinasa FOX-5) y las cepas control de *E. coli* ATCC 25922 y ATCC 35218. Estas cepas, bien caracterizadas por métodos de referencia, fueron distribuidas a los 57 centros participantes. Se les pidió que identificaran y realizaran estudios de sensibilidad tal y como lo harían habitualmente y los resultados se compararon con los obtenidos por los centros de referencia.

Resultados: La identificación microbiana fue correcta en todos los casos, excepto una cepa de *K. pneumoniae* productora de FOX-5, considerada como *K. oxytoca* por un centro. Menos del 60% de centros sugirieron correctamente la presencia de cefamicinasa plasmídica y en el caso de la cepa de *E. coli* hiperproductora de su AmpC fue apuntada correctamente por el 52,6% de centros. El 32,2% de centros no comentó el mecanismo de resistencia y alrededor de un 13,5% lo hizo incorrectamente. Aunque la confusión de AmpC por BLEE (7,6%) causó la mayoría de errores, interpretando como resistente las cefalosporinas y aztreonam, otros errores se debieron a la confusión con hiperproducción de penicilinas y/o transtornos de permeabilidad (5,8%). En la cepa de *E. coli* hiperproductora de su AmpC cromosómica se detectaron 2 errores máximos para la combinación amoxicilina-clavulánico y uno para ceftazidima. Para cefepime se produjeron errores mayores con porcentajes que oscilaban entre el 16-26,3% en las 3 cepas con fenotipo AmpC.

Conclusiones: La capacidad de los centros españoles para detectar la producción de enzimas AmpC, presenta ciertas limitaciones. Los resultados se deben, además de a la falta de marcadores específicos, a la inexistencia de recomendaciones claras

sobre cómo informar este tipo de cepas. Los criterios aplicados por los centros fueron muy variados, con gran tendencia a dejar como única alternativa terapéutica dentro de los betalactámicos a los carbapenems, excluyendo también al cefepime. El fracaso en la detección de estas enzimas puede contribuir a su diseminación y en muchos casos a fracasos terapéuticos.

27

ESTUDIO DE RESISTENCIAS A PENICILINA DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* AISLADOS EN PEDIATRÍA DEL H. U. REINA SOFÍA EN LOS ÚLTIMOS 3 AÑOS. SEROTIPOS MÁS FRECUENTES

M. C. Gamero, A. Ibarra, F. Rodríguez y M. Casal
Servicio Microbiología y Parasitología Clínicas. Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba.

Introducción: *Streptococcus Pneumoniae* presenta múltiples mecanismos de resistencia a penicilina.

Respecto a los serotipos de *Streptococcus Pneumoniae*, los más frecuentes en niños son el 19, 6, 14, 18 Y 23.

Los serotipos más virulentos: 1, 2, 3, 4, 7 y 8; y los serotipos en cepas resistentes a penicilina: 6, 9, 14, 15, 19, 23

Objetivo: Nuestro objetivo ha sido estudiar los asilamientos de *Streptococcus Pneumoniae* en el servicio de pediatría de nuestro hospital en el periodo 2005-2007 atendiendo a su resistencia a la penicilina y ver los serotipos más frecuentemente aislados.

Material y métodos: Valoramos 145 cepas de *Streptococcus Pneumoniae* aisladas en pediatría en el periodo establecido atendiendo a su antibiograma, realizado con tiras E-Test; así como el serotipo al que pertenecía cada cepa.

Resultados: El porcentaje de sensibilidades de *Streptococcus Pneumoniae* en el periodo estudiado:

De las 145 cepas, 100 fueron sensibles (68,9%), 30 presentaron una sensibilidad disminuida (20,68%) y 15 resultaron resistentes (10,3%).

Estudiamos las cepas resistentes y con sensibilidad disminuida frente a otros antibióticos y encontramos:

Las cepas resistentes presentaron las siguientes sensibilidades: 88,1% amoxicilina/clavulánico, 90% cefotaxima, 100% vancomicina, 52,7% eritromicina.

Las cepas con sensibilidad disminuida fueron sensibles al 100% frente a amoxicilina/clavulánico, cefotaxima y vancomicina y un 60% frente a eritromicina

Respecto a los serotipos más frecuentemente aislados en pediatría encontramos:

19: 62,5%; 14: 12,5%; 7: 12,5%; 1: 12,5%

Conclusiones: La resistencia de *Streptococcus Pneumoniae* fue de 30,98%, ligeramente inferior a la media nacional.

Los serotipos encontrados coinciden con los porcentajes de mayor frecuencia en nuestro medio en niños y con los datos establecidos en la literatura.

Un 25% representa serotipos muy virulentos.

28

STAPHYLOCOCCUS AUREUS INVASIVO EN ESPAÑA: ALTA PREVALENCIA DEL SPA-TIPO T067 ASOCIADO A LA RESISTENCIA A OXACILINA-CIPROFLOXACINO-TOBRAMICINA-ERITROMICINA Y A LA EXPRESIÓN DE LOS GENES ANT (4') Y MRSA/MRSB

M. Pérez-Vázquez¹, A. Vindel², C. Marcos², J. Oteo¹, O. Cuevas¹, P. Trincado², V. Bautista¹, S. García-Cobos¹, J. Campos¹ y el grupo español del "EARSS spa-typing"

¹Laboratorio de Antibióticos (Servicio de Bacteriología),

²Laboratorio de referencia de Staphylococcus (Servicio de Bacteriología), Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III (Madrid).

Introducción y objetivos: Estudiar la epidemiología molecular y los mecanismos de resistencia a antibióticos en cepas

invasivas de *Staphylococcus aureus* de 21 hospitales de nuestro país.

Material y métodos: En 203 aislamientos, 90 resistentes a metilicina (SARM) y 113 sensibles (SASM), se estudiaron los marcadores moleculares SCCmec, agr, PFGE, spa-typing, PVL genes y MLST, así como la sensibilidad a antimicrobianos y genes de resistencia.

Resultados: La mayoría de SARM (84.4%) presentaban el agr tipo II y el SCCmec tipo IV; por PFGE se encontraron 28 pulsotipos diferentes, pero un 70% de los aislamientos se agruparon en 8 grupos clonales (siendo predominantes el E7 y E8). En SASM, por PFGE se observaron 88 pulsotipos distintos, aunque el 92% de los aislamientos se agruparon en diez grupos clonales. Mediante "spa-typing" los 203 aislados se agruparon en 69 spa-tipos distintos, 18 en SARM y 57 en SASM, 6 eran comunes a ambos. El 51,2% de 203 *S. aureus* se agruparon en cuatro spa-tipos (t067, t002, t012 y t008). El tipo t067 se detectó en 18 de los 21 hospitales participantes (85,7%), en seis de ellos incluyendo tanto SARM como SASM. En total, el 26,4% de los aislamientos presentaron el spa-tipo t067 en comparación con el 0,6 % descrito en la base de datos central (Ridom StaphType™, $P < 0,0001$). Los fenotipos de multiresistencia mas frecuentes en SARM fueron resistencia a oxacilina-ciprofloxacina-tobramicina-eritromicina (21,1%) y resistencia a oxacilina-ciprofloxacina-tobramicina (18,9%). La prevalencia del gen ant (4')-Ia (resistencia a tobramicina y sensibilidad a gentamicina) y de los genes mrsA/mrsB (resistencia a macrólidos y estreptogramina B) fue mayor en los aislamientos de SARM del tipo t067 que en otros tipos ($P < 0,002$). Por primera vez se encontró asociación entre el spa-tipo t067 y el ST125. Se detectó a su vez una alta prevalencia de aislamientos SASM que eran PVL positivos (36,4%). Algunos aislamientos de SARM y SASM que eran del agr tipo II, también compartían otros marcadores moleculares como el spa-cluster CC002, y el tipo de MLST, ST5 o 125.

Conclusiones: El análisis de la población de *S. aureus* invasivos aislados en hospitales españoles muestra la emergencia en España del spa-type t067 (ST125 o ST5) muy raramente observado en otros países europeos, que además presenta una fuerte asociación al perfil de resistencia a oxacilina, ciprofloxacina, tobramicina y eritromicina mediada en parte por los genes de resistencia ant (4')-Ia y mrsA/mrsB.

29

RESISTENCIA A MÚLTIPLES ANTIBIÓTICOS EN *ESCHERICHIA COLI*: ESTUDIO EVOLUTIVO EN 16.886 BACTERIEMIAS (2001-2007) DE LA RED DE HOSPITALES REVERA-EARSS

J. Oteo*, O. Cuevas, C. Navarro, B. Aracil, J. Campos y todos los miembros de la red REVERA-EARSS

Laboratorio de antibióticos, Bacteriología. Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid.

Objetivos: EARSS es la red oficial europea para la vigilancia y control de la resistencia a antibióticos en patógenos invasivos. REVERA-EARSS es la Red Española para la Vigilancia y Estudio de la Resistencia a Antibióticos que colabora en EARSS. En este estudio presentamos las tendencias evolutivas de la multi-resistencia (MR) a antibióticos en *Escherichia coli* (ECO) causante de bacteriemias según los resultados de REVERA-EARSS durante 2001-2007.

Material y métodos: Participaron 40 hospitales españoles, con una cobertura aproximada del 30% de la población española y con una representación de las principales regiones españolas proporcional a su número de habitantes. Cada laboratorio aisló, identificó y estudió la sensibilidad a antibióticos con sus métodos de rutina. Sólo se consideró el primer aislamiento de sangre por paciente y año. Se realizó un control de calidad externo anual por la empresa NEQAS.

Resultados: De las 19.506 bacteriemias por *E. coli* estudiadas, en 16.886 (86,5%) se dispuso de las CMI a ampicilina (AMP), ciprofloxacino (CIP), cotrimoxazol (SXT), gentamicina (GM) y cefotaxima (CTX). Se detectó MR (resistencia a tres o más de estos antibióticos) en 3227 aislamientos (19,1%). Los perfiles de MR más prevalentes fueron resistencia a AMP-SXT-CIP (1502 aislamientos, 8,9% del total y 46,5% de los MR), y AMP-SXT-CIP-GM (605 aislamientos, 3,6% del total y 18,7% de los MR). La resistencia a los 5 antibióticos analizados se detectó en 152 aislamientos, 0,9% del total y 4,7% de los MR. La prevalencia de MR aumentó del 12,6% en 2001 al 22,2% en 2005 ($p < 0,001$), estabilizándose alrededor del 20% en 2006 (20,4%) y 2007 (20,9%). La resistencia a los 5 antibióticos analizados aumentó del 0,3% en 2001 al 1,1% en 2007, con el pico máximo en 2005 (1,7%). La resistencia individual a cada uno de los antibióticos aumentó entre 2001 y 2007 como sigue: AMP, 58,4% a. 62,4%; SXT, 32,9% a. 34%; CIP, 17,2% a. 30,2%; GM, 6,5% a. 8%; y CTX, 1,6% a. 7%; el aumento fue estadísticamente significativo ($P < 0,007$) para AMP, CIP y CTX.

Conclusiones: La prevalencia de MR a antibióticos en ECO productor de bacteriemias es elevada en España y ha mostrado un constante y progresivo aumento desde 2001 a 2005, estabilizándose en 2006 y 2007. La resistencia a cefotaxima también se estabilizó en 2006 y 2007 pero la resistencia a ciprofloxacino alcanzó el su máximo en 2007.

30

ENTEROCOCCUS FAECALIS SENSIBLE A AMPICILINA Y RESISTENTE A IMIPENEM

L. Martínez-Lamas, L. Moldes, C. Varón, L. Rodríguez-Otero, M. Treviño y C. García-Riestra

Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago.

Introducción: La sensibilidad a imipenem en *Enterococcus faecalis* se obtiene por deducción del resultado frente a la ampicilina. Sin embargo, en los últimos años, existen descripciones de aislados clínicos con el fenotipo ampicilina-sensible a imipenem-resistente.

Objetivo: Descripción de dos aislamientos de *E. faecalis* resistentes a penicilina e imipenem y sensibles a ampicilina asociados a infección urinaria; así como la revisión de los aislamientos de *E. faecalis* encontrados en el último año en nuestro hospital.

Material y métodos: Se recuperaron dos aislamientos de *E. faecalis* a partir de muestras de orina de dos pacientes de la unidad de trasplantes. La identificación y sensibilidad se llevó a cabo mediante el sistema Vitek II (Biomérieux®, Francia). Los resultados se confirmaron con la galería Api 20 Strep (Biomérieux®, Francia) y Etest (ABBIODISK®, Suecia), respectivamente.

Resultados: Los dos aislamientos se confirmaron como sensibles a ampicilina (CMI: ≤ 2 Y 8 mcg/ml) y resistentes a penicilina (CMI: 16 y 32 mcg/ml) e imipenem (CMI: > 32 mcg/ml).

Durante el año 2007 se aislaron 900 *E. faecalis*, de los que 99 fueron penicilina-resistentes (11%) y tan sólo 6 tuvieron una CMI a imipenem ≥ 8 mcg/ml. La CMI₅₀ y la CMI₉₀ para el imipenem en el grupo de resistentes a penicilina fueron 2 y 4 mcg/ml, respectivamente.

Así mismo, la totalidad de los aislados penicilina-resistente resultaron sensibles a vancomicina, teicoplanina y linezolid y el 75% presentaron resistencia de alto nivel a gentamicina.

Conclusiones: El aislamiento de *E. faecalis* resistente a penicilina y sensible a ampicilina puede hacernos pensar en la existencia de una posible sensibilidad disminuida a imipenem. Por otra parte es frecuente encontrar una alta resistencia a aminoglucósidos en el grupo de enterococos resistentes a penicilina.

Las cepas de *E. faecalis* con resistencia a imipenem pueden no ser detectadas al usar la ampicilina como único marcador

de sensibilidad a betalactámicos. Creemos necesario incorporar la determinación de la CMI a imipenem, si se contempla dicho antibiótico para el tratamiento.

31

CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE CEPAS CON ALTA Y BAJA RESISTENCIA A FLUOROQUINOLONAS EN *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

M. Montes^{1,2}, E. Tamayo¹, B. Orden³, J.M. Marimon^{1,2} y E. Pérez-Trallero^{1,2}

¹Servicio de Microbiología. Hospital Donostia, San Sebastián, Gipuzkoa. ²CibeRes 06/26. ³Servicio de Microbiología, H.U. Puerta de Hierro (Centro de Especialidades Argüelles) Madrid.

Introducción: En los últimos años se ha descrito la presencia de *Streptococcus pyogenes* con resistencia de bajo nivel a fluoroquinolonas (FQ) en España y resto del mundo, siendo excepcionales los casos con alto nivel de resistencia. En este estudio se describe el mecanismo de resistencia y la relación clonal de cepas resistentes a FQ (FQr), incluyendo tres aislamientos clínicos de *S. pyogenes* con alto nivel de resistencia, procedentes del Centro de Salud Argüelles de Madrid y el Hospital Donostia en San Sebastián.

Material y métodos: Con el objeto de detectar cepas de alto nivel de resistencia a ciprofloxacino, se revisó la susceptibilidad a este fármaco en 2213 aislamientos de *S. pyogenes* obtenidos en el Hospital Donostia y en el Centro de Salud de Argüelles de Madrid, durante el periodo 1999-2007. Para la caracterización de las cepas se utilizó T-tipado, emm-tipado, MLST y PFGE. Las posibles mutaciones en la QRDR se determinaron mediante amplificación y secuenciación de los genes parC y gyrA (primers descritos por Yan SS AAC 44:3196, 2000). La CMI para ciprofloxacino se determinó por microdilución en caldo y E-test.

Resultados: Se detectaron 236 cepas FQr, 233 cepas con bajo nivel de resistencia (CMI 2-16 mg/L) y 3 cepas con alto nivel de resistencia (CMI $\geq$ 64 mg/L) que fueron aisladas dos en Gipuzkoa (año 2001, herida quirúrgica, varón 77 años y año 2005, frotis faríngeo, niña de 7 años) y una tercera en Madrid (2007, frotis faríngeo, varón 28 años). Todas las cepas con CMI de ciprofloxacino $\geq$ 4 mg/L presentaron mutación en el parC. La mutación más común en estas cepas con bajo nivel de resistencia fue Ser79/Ala. Algunas cepas con CMI ciprofloxacino = 2 mg/L también presentaron mutación en el parC. Cada una de las tres cepas con alto nivel de resistencia pertenecieron a clones diferentes: emm28/ST52, emm68/ST247 y emm77/ST399. Las tres presentaron mutación en el parC y GyrA. La mutación en el gen parC se tradujo en los 3 casos en la sustitución del aminoácido Ser79/Phe, además la cepa emm28 mostró en el parC una segunda sustitución Asp91/Asn. En el gen gyrA la mutación se tradujo en la sustitución Ser81/Phe en los tres casos.

Conclusión: Los aislamientos de *S. pyogenes* con bajo nivel de resistencia a fluoroquinolonas son relativamente frecuentes, siendo preocupante la detección reciente de cepas con resistencia de alto nivel.

32

COSTE DE LAS BACTERIEMIAS POR *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN ESPAÑA

J. Garau¹, S. Grau², L. Martínez-Martínez³, C. Rubio-Terrés⁴ y N. García-Escribano⁵

¹Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Mútua de Tarrasa. Barcelona. ²Servicio de Farmacia Hospitalaria. Hospital del Mar. Barcelona. ³Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. ⁴HEALTH VALUE. Madrid. ⁵Departamento Médico Wyeth Farma. Madrid.

Objetivo: Estimar el impacto sobre la utilización de recursos sanitarios y los costes de las bacteriemias producidas por

cepas de *E. coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (*E. coli* BLEE) en España.

Material y métodos: Estudio observacional, retrospectivo, caso-control, multicéntrico, de la utilización de recursos sanitarios y sus costes asociados al tratamiento de bacteriemias por cepas de *E. coli* BLEE. Horizonte temporal: 12 meses (Enero-Diciembre 2.005). Población diana: pacientes españoles con bacteriemias por *E. coli* BLEE (5 casos/hospital) y *E. coli* no productora de BLEE (10 controles/hospital) seleccionados mediante un muestreo sistemático. Utilización de recursos: se recogió mediante la revisión de las historias clínicas hospitalarias. Costes sanitarios: los valores unitarios se obtuvieron de los hospitales participantes y de bases de datos españolas; los costes del episodio de bacteriemia se estimaron a partir de los resultados de la utilización de recursos; se expresan en euros (€) de octubre de 2006. Análisis de sensibilidad: se hicieron varios análisis de sensibilidad simples unifactoriales del caso básico.

Resultados: Se revisaron las historias clínicas de 340 pacientes válidos con bacteriemias por *E. coli* (109 casos y 231 controles) procedentes de 28 hospitales españoles. La utilización de recursos por episodio de bacteriemia fue mayor en los casos de resistencia, con mayor duración del tratamiento antibiótico (1,9 días más con *E. coli* BLEE), mayor número de pruebas complementarias, más días de hospitalización (10,9 días más con *E. coli* BLEE), mayor tasa de ingreso en UCI (9,4%) y una mayor tasa de reingreso hospitalario (5,6%). Este mayor consumo de recursos, dio lugar a un mayor coste por episodio, que ascendió a 4.234 € (1,65 veces) más como consecuencia de la infección por *E. coli* BLEE. Los principales determinantes de la diferencia de costes fueron la mayor tasa de ingreso en UCI y de reingresos y la mayor duración de la estancia en los pacientes con bacteriemias debidas a cepas resistentes. Los análisis de sensibilidad confirmaron la estabilidad del caso básico, con costes incrementales debidos a las cepas resistentes que oscilaron entre 1.202 y 11.675 €, según el escenario considerado.

Conclusiones: De acuerdo con los resultados obtenidos, el tratamiento de las bacteriemias producidas por *E. coli* BLEE genera costes adicionales por episodio de bacteriemia que pueden alcanzar los 11.700 €.

33

RESISTENCIA A VORICONAZOL Y/O FLUCONAZOL EN LEVADURAS AISLADAS EN UN HOSPITAL DEL SUROESTE DE MADRID (2005-2007)

M.T. Durán-Valle y J.L. Gómez-Garcés

Servicio de Microbiología. Hospital de Móstoles.

Objetivo: Evaluar la resistencia a voriconazol y/o fluconazol en las levaduras aisladas de muestras clínicas recibidas en el Hospital de Móstoles en los últimos tres años (2005-2007).

Material y métodos: Se estudió prospectivamente la susceptibilidad a fluconazol y voriconazol de las levaduras aisladas de muestras clínicas de pacientes ingresados y del Servicio de Urgencias del Hospital, remitidas a nuestro Servicio para estudio de infección/colonización. Se incluyó un aislado por paciente y por episodio de infección/colonización. El estudio de la susceptibilidad de los aislados de sitios estériles (sangre, líquidos orgánicos, aspirados y biopsias) se realizó por el método E-test; y el de los aislados de sitios no estériles (catéter, orina, oro-faríngeo, secreciones respiratorias, jugo gástrico, exudados, drenajes y frotis de piel) se realizó por el método de disco (CLSI M-44A) con tabletas Neo-Sensitabs®. Las placas de agar Mueller-Hinton con 2% de glucosa y 0,5 mcg/ml de azul de metileno se inocularon con una suspensión de la levadura (0,5 de McFarland para *Candida* spp y 1 de McFarland para *Cryptococcus neoformans* y *Trichosporon* spp). La lectura de las elipses y diámetros del 80% de inhibición del crecimiento se realizó después de 24-48 horas de incubación (*Candida* spp) ó 48-72 horas (*Cryptococcus neoformans* y *Trichosporon* spp) a 35°C. Los aislados se consideraron sensibles, resistentes o sensibles dependiente de

la dosis (SDD) siguiendo los criterios del CLSI (M-44A para difusión de disco y M27-A2 para E-test).

Resultados: Se estudiaron 231 aislados: 133 *C. albicans*, 34 *C. glabrata*, 25 *C. tropicalis*, 22 *C. parapsilosis*, 7 *C. krusei*, 3 *C. lusitaniae*, 2 *C. kefyr*, 1 *C. famata*, 1 *C. guilliermondii*, 1 *Cryptococcus neoformans*, 1 *Saccharomyces cerevisiae* y 1 *Trichosporon inkin*. Globalmente, 91,5% de los aislados fueron sensibles a fluconazol y 98% lo fueron a voriconazol. 8,5% de los aislados presentaron sensibilidad disminuida a fluconazol (resistentes o SDD): 10 *C. glabrata*, 7 *C. krusei*, 1 *C. parapsilosis*, 1 *C. tropicalis* y 1 *C. lusitaniae*. 2% de los aislados presentaron sensibilidad disminuida a voriconazol (resistentes o SDD): 2 *C. glabrata*, 1 *C. parapsilosis* y 1 *C. lusitaniae*; estos aislados además presentaron resistencia cruzada a fluconazol. Cuando se consideraron por separado los aislados de sangre (10 *C. albicans*, 6 *C. parapsilosis*, 3 *C. glabrata*, 2 *C. tropicalis*, 1 *C. lusitaniae* y 1 *Saccharomyces cerevisiae*), 91,5% de los aislados fueron sensibles a fluconazol y 95,5 fueron sensibles a voriconazol.

Conclusiones: En nuestro hospital *C. albicans* sigue siendo la especie de levadura aislada con mayor frecuencia, globalmente de todas las muestras (57,5%) y de sangre (44%). En los últimos tres años, ningún aislado de esta especie ha mostrado sensibilidad disminuida a fluconazol. *C. glabrata* es la segunda especie de levadura más frecuente en muestras clínicas y la tercera en hemocultivos después de *C. parapsilosis*. Sin embargo, la resistencia a azoles sigue siendo poco frecuente. Sólo 8,5% de los aislados presentaron sensibilidad disminuida a fluconazol y 2-4,5% a voriconazol.

34

ESTRUCTURA POBLACIONAL DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE BLEES EN ONCE HOSPITALES ESPAÑOLES

J. Oteo¹, C. Juan², M. Pérez-Vázquez¹, A. Novais³, K. Diestra⁴, V. Bautista¹, B. Moyá², E. Miró⁴, T.M. Coque³, A. Oliver², R. Cantón³, J. Campos¹, F. Navarro⁴ y Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI)

¹Laboratorio de Antibióticos, Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III. ²Majadahonda, Madrid. ³Servicio de Microbiología, Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. ⁴Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid. ⁵Servicio de Microbiología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Objetivos: Estudiar la estructura poblacional de los aislamientos de *E. coli* productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) recogidos durante el primer trimestre de 2004 en 11 hospitales de España en el contexto de la Red Española en Patología Infecciosa.

Métodos: Se estudiaron 92 aislamientos de *E. coli* productores de BLEE y se analizó su estructura poblacional mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE) tras digestión con XbaI y MLST según la metodología del Instituto Max-Planck de Berlín basado en la secuenciación de los genes house-keeping *adh*, *fumC*, *gyrB*, *icd*, *mdh*, *aroE* y *purA*. El estudio de grupos filogenéticos (GFs) se realizó mediante PCR múltiple. Las BLEEs más prevalentes en esta colección eran CTX-M-14 (41), CTX-M-9 (19) y SHV-12 (18); sólo 3 cepas tenían CTX-M-15.

Resultados: 35 aislamientos (38,1%) pertenecían al GF A, 27 (29,3%) al B1, 13 (14,1%) al B2 y 17 (18,5%) al D. No se observó asociación entre GFs y tipo de BLEEs, detectándose 7 tipos diferentes de BLEEs en los aislamientos del GF A, 4 en los del GF B1, 6 en los del GF B2 y 3 en los del GF D. De los 92 aislamientos estudiados en 10 no se obtuvo ningún patrón de restricción con XbaI, entre los 82 restantes se obtuvieron 78 pulsotipos distintos con sólo cuatro parejas de aislamientos con el mismo patrón. No se observó asociación de los pulsotipos ni en función del hospital ni del tipo de BLEE. Mediante MLST, se obtuvieron 56 ST diferentes, siendo los ST más prevalentes el ST131 (8 aislamientos), ST167 (5), ST23 (4), ST602 (4), ST359 (4), ST224 (3), ST401 (3) y ST117

(3). Su relación con los GFs fue: ST131, 7 (87,5%) aislamientos del GF B2 y 1 (12,5%) del GF D; ST167, 5 (100%) del GF A; ST23, 4 (100%) del GF A; ST602, 4 (100%) del GF B1; ST359, 4 (100%) del GF B1; ST224, 3 (100%) del GF B1; ST401, 3 (100%) del GF A; y ST117, 3 (100%) del GF D. Se observó variabilidad de BLEE en cada uno de los ST más frecuentes, por ejemplo entre los 8 aislamientos del ST131 se detectaron 6 diferentes BLEEs. Sin embargo, todos los aislamientos de los ST401 y ST602 producían una CTX-M-9.

Conclusión: En este estudio se ha detectado una gran variabilidad genética en los aislamientos de *E. coli* productores de BLEE. Existe una buena correlación entre los STs más prevalentes y determinados grupos filogenéticos. En general, no se detecta asociación entre los distintos STs y el tipo de BLEE, aunque sí se observan ciertas agrupaciones puntuales para la BLEE CTX-M-9.

35

PERFIL DE SENSIBILIDAD DE DIFERENTES *CRYPTOCOCCUS* SPP. NO NEOFORMANS

L. Bernal, A. Gómez, V. Castelli, O. Zaragoza, J.L. Rodríguez y M. Cuenca

Servicio de Micología, Centro Nacional Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

Objetivo: Conocer el patrón de sensibilidad a los antifúngicos de una colección de 24 aislados clínicos de *Cryptococcus* spp. no neoformans.

Material y métodos: Las cepas estudiadas fueron aisladas durante los últimos 10 años, cada una proveniente de un paciente diferente. El 54% de éstas fueron aisladas de muestras superficiales y el 48,5% de muestras profundas. Todas ellas fueron identificadas morfológica y bioquímicamente, por técnicas habituales. Las CMI se obtuvieron mediante la metodología EUCAST y los antifúngicos empleados fueron anfotericina B, 5-fluorocitosina, fluconazol, itraconazol y voriconazol.

Resultados: En la colección se identificaron 10 *C. albidus*, 8 *C. laurentii*, 2 *C. curvatus* y 4 *C. humicola*. *C. albidus* se mostró como la especie más resistente con medias geométricas (MG) de anfotericina B de 0,51 mg/L, de 5-fluorocitosina de > 64,0 mg/L, de fluconazol de 41,2 mg/L, de itraconazol de 3,15 mg/L y de voriconazol de 3,03 mg/L. Las MGs de *C. laurentii* para anfotericina B, 5-fluorocitosina, fluconazol, itraconazol y voriconazol fueron de 0,17, > 64,0, 24,5, 1,22 y 1,55 mg/L, respectivamente. Los valores de MGs de *C. curvatus* para esos cinco antifúngicos fueron de 0,25, 32,5, 6,0, 0,62 y 0,15 mg/L, respectivamente y las MGs de *C. humicola* para anfotericina B fue de 0,5 mg/L, para 5-fluorocitosina de 26,0 mg/L, para fluconazol 10,5 mg/L, para itraconazol de 0,45 mg/L y para voriconazol de 0,16 mg/L.

Conclusiones: i) Anfotericina B es el antifúngico más activo in vitro frente estas especies de *Cryptococcus* spp. no neoformans. ii) Fluconazol es poco activo in vitro frente a estas especies. iii) Voriconazol e Itraconazol son activos in vitro para *C. laurentii*, *C. curvatus* y *C. humicola*. iv) Se deben realizar esfuerzos para identificar estas especies y hacer el estudio de sensibilidad.

36

DETECCIÓN DE ENTEROCOCCUS FAECIUM VANB2 Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA EN ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

M. López¹, C. Lozano¹, V. Pérez¹, S. Martínez¹, R. del Campo², F. Ruiz-Larrea¹, M. Zarazaga¹ y C. Torres¹

¹Área de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de La Rioja. Logroño. ²Servicio de Microbiología, Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: Conocer la prevalencia de Enterococcus resistentes a vancomicina (ERV) y S. aureus resistentes a meticilina (SARM) en alimentos de origen animal.

Material y métodos: Se tomaron 51 muestras de alimentos de origen animal (29 ave, 9 ternera, 8 cerdo, 3 picada mezcla ternera-cerdo, 2 cordero) y una suspensión de las mismas se inoculó en placas Slanetz-Bartley con 4 mg/L de vancomicina (aislamiento ERV) y en placas ORSAB de OXOID con 2 mg/L de oxacilina (aislamiento SARM). Se aisló una colonia sugestiva de ERV o SARM por placa y muestra y se identificaron por pruebas bioquímicas y PCR. Se estudió el fenotipo de resistencia a antibióticos por disco-placa y dilución en agar (CLSI). Se determinaron los genes de resistencia y de virulencia por PCR y secuenciación.

Resultados: Se detectó ERV en 5 de las 51 muestras analizadas (10%), identificándose 2 *E. faecium* con genotipo vanB2 (4% de las muestras), 2 *E. gallinarum* y 1 *E. casseliflavus*. Las cepas vanB2, aisladas de una muestra de pollo y otra de ternera, presentaban resistencia a ampicilina, eritromicina, cloranfenicol, ciprofloxacina y resistencia de alto nivel a estreptomicina y kanamicina. Se evidenció la inclusión de vanB2 en el transposon Tn1542, ambas cepas contenían el alelo purK16, albergaban los genes de resistencia erm(A) o erm(B), ant(6'), y aph(3')-IIIa, y carecían de los genes de virulencia hyl y esp. Se aisló una cepa SARM a partir de una muestra de origen aviar (2% de las muestras analizadas). La cepa SARM presentó el Staphylococcal Cassette Chromosome mec SCCmec tipo II y resultó negativa para la PCR de la leucocidina de Pantón-Valentine (PVL).

Conclusiones: La presencia de ERV con genotipo vanB2 y SARM en la microbiota de alimentos tiene una implicación epidemiológica en la diseminación de la resistencia. La cadena alimentaria ha de ser considerada como un posible vehículo de transmisión de cepas resistentes y de genes de resistencia.

37

PREVALENCIA DE GENES SUL EN ENTEROBACTERIACEAE AISLADAS EN EL HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL DURANTE LAS ÚLTIMAS DOS DÉCADAS

T. Curiaño¹, R. Cantón¹, E. Machado^{2,3}, L. Peixe^{2,3}, F. Baquero¹ y T.M. Coque¹

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, Spain. ²REQUIMTE, Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Porto, Portugal. ³Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, Portugal.

Objetivos: Estudiar la prevalencia y relación de sul1, sul2 y sul3 y entornos genéticos asociados en enterobacterias aisladas en el Hospital Ramón y Cajal desde 1988 a 2006.

Material y métodos: Se estudiaron 344 aislados (249 *Escherichia coli*, 56 *Klebsiella pneumoniae*, 23 *Enterobacter*, 7 *Klebsiella oxytoca*, 6 *Salmonella* spp. y 3 *Citrobacter* spp.) productoras de distintas beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) o metalo-beta-lactamasas (MBL) (TEM-4,-12,-24,-27,-52; SHV-2,-5,-12,-13; CTX-M-1,-3,-9,-10,-14,-15, y -32; VIM-1, n=234) y no productoras de BLEE de origen clínico (n=70) y de portadores fecales (n=40). Se realizó estudio de sensibilidad a 15 antibióticos por difusión en placa (CLSI). La búsqueda de secuencias habitualmente asociadas a genes sul (integrones de clase I, ISCR2, repC_{pRSF1010}, qacH, IS26) se hizo por PCR e hibridación y se caracterizó su entorno genético por ensayos de PCR solapante basados en secuencias conocidas, long-PCR-RFLP y secuenciación.

Resultados: El 52% de los aislados fueron resistentes a sulfamidas (55,8% productores de BLEE y 48,2% no-BLEE). Sul1, 2 y 3 fueron más frecuentes entre los aislados con BLEE que en los no-BLEE (54%, 38%, 6% vs 35%, 31%, 2%, respectivamente). La co-existencia de más de un gen sul se demostró en el 27% de los aislados. La resistencia a sulfamidas transfirió con la de los beta-lactámicos en 47,5%. sul1 se asoció a integrones de clase I en el 78% de los aislados, sul2 a secuencias derivadas de pRSF1010 (20%) y a elementos

con ISCR2 (18%) y sul3 a integrones de clase 1 inusuales que contienen qacH en la región 3'CS (62,5%). Este fue identificado, mayoritariamente en cepas productoras de CTX-M-14 y SHV-12. El análisis de las secuencias de los genes sul2 y sul3 reveló la ausencia de polimorfismos en genes de distintos clones.

Conclusiones: La resistencia actual a sulfamidas permanece elevada a pesar del uso decreciente de estos antibióticos en la práctica clínica durante las últimas décadas. Los determinantes genéticos sul1, sul2 y sul3 se encuentran localizados en distintas plataformas genéticas diseminadas en bacterias gram-negativas productoras y no productoras de BLEE y aisladas tanto en el medio hospitalario como extra-hospitalario. Sul3 se asocia principalmente a aislados productores de BLEE procedentes de la comunidad.

38

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE KLEBSIELLA SPP DE ORIGEN HOSPITALARIO

A. Valverde¹, M. Gómez², A. Maldonado², F. Chaves³, M. Rodríguez-Baños¹, R. Cantón¹, J.M. Rodríguez² y R. del Campo¹

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid. ²Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. ³Servicio de Microbiología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Introducción/objetivos. *Klebsiella pneumoniae* y *Klebsiella oxytoca* son importantes patógenos nosocomiales, especialmente asociados con brotes en Unidades de Cuidados Intensivos o en grupos de alto riesgo. El objetivo de este trabajo fue estudiar la relación genética y la sensibilidad antibiótica de aislados de *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* obtenidos de muestras clínicas en dos hospitales de la Comunidad de Madrid.

Materiales: Se incluyeron 34 *K. pneumoniae* y 24 *K. oxytoca* aisladas en los Hospitales Universitarios Ramón y Cajal y 12 de Octubre durante 2005-2007. Como control se utilizaron las cepas *K. pneumoniae* ssp. *pneumoniae* CECT 517 y *K. oxytoca* CECT 860. La identificación de todas las cepas se realizó sistema automático WIDER (Soria Melguizo, Madrid), y posterior confirmación mediante la secuenciación de un fragmento interno del gen 16S rRNA. La relación genética de todos los aislados se analizó mediante PFGE-XbaI, asignando los diferentes clones mediante la construcción de un dendrograma con el software Phoretix 5.0. Los aislados de *K. pneumoniae* clasificaron en los distintos grupos filogenéticos según el esquema descrito por Brisse y cols (Clin Microbiol Infect, 2004, 10:942). En los aislados con fenotipo productor de BLEE, se caracterizaron dichas enzimas mediante amplificación por PCR con cebadores específicos para cada uno de los grupos y posterior secuenciación.

Resultados: Se detectó una gran diversidad genética (34 aislados/32 pulsotipos) en los aislados de *K. pneumoniae*, correspondiendo la mayoría de los aislados estudiados (90%) al grupo filogenético KpI, y el resto al grupo KpIII. Seis de los aislados del Hospital 12 de Octubre (servicio de neonatología), pertenecientes a 4 clones diferentes, fueron productores de CTX-M-15. Estas cepas presentaron resistencia a gentamicina y tobramicina, sensibilidad a ciprofloxacina, y dos de ellas resistencia a ac. nalidixico. Los aislados de *K. oxytoca* también presentaron una gran variabilidad genética (24 aislados/20 pulsotipos), siendo sensibles a todos los antibióticos, excepto un aislado resistente a ac. nalidixico.

Conclusiones: Existe una gran variabilidad genética en los aislados de *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* de dos hospitales de Madrid. Así mismo, todas las cepas eran sensibles a los antibióticos estudiados, excepto los 6 aislados productores de CTX-M-15, provenientes del Hospital 12 de Octubre, con un fenotipo de co-resistencia posiblemente asociado a dicha BLEE.

39

DETECCIÓN DE LOS GENES QNR Y AAC(6')-IB-CR EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *KLEBSIELLA* PRODUCTORAS DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

E. Ruiz¹, S. Somalo¹, A. Jouini¹, L. Vinué¹, Y. Sáenz¹, A. Rezusta², M.J. Revilla², M. Zarazaga¹ y C. Torres¹

¹Área Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de La Rioja, Logroño. ²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza.

Objetivo: Estudiar la prevalencia de los genes qnr y aac(6')-Ib-cr en 47 cepas productoras de beta-lactamasas de espectro-extendido (BLEE) y determinar las variantes de dichos genes.

Material y métodos: Cepas estudiadas: *E. coli* productoras de CTX-M-15 (31), CTX-M-1 (2), CTX-M-32 (1), CTX-M-14 (1), CTX-M-14 + SHV-12 (5), SHV-12 (2), BLEE tipo TEM (3); *K. oxytoca* productora de CTX-M-15 (1); *K. pneumoniae* CTX-M-15 + SHV-11 (1). Se estudiaron los genes qnrA, qnrB, qnrS y aac(6')-Ib-cr por PCR y posterior secuenciación de los amplicones obtenidos.

Resultados: El gen qnrS se detectó en la cepa *K. oxytoca* productora de CTX-M-15. La secuenciación de dicho gen demostró la presencia de la variante qnrS1. La amplificación de los genes qnrA y qnrB fue negativa en las 47 cepas estudiadas.

El gen aac(6')-Ib fue detectado por PCR en 27 cepas, en 26 de las cuáles (55% de las cepas estudiadas) se demostró por secuenciación la presencia de los cambios aminoacídicos W102R y D179Y que caracterizan a la variante génica aac(6')-Ib-cr. Dicha variante se detectó en cepas de *E. coli* y de *Klebsiella* CTX-M-15-positivas y en una cepa de *E. coli* productora de CTX-M-32. Las mutaciones nucleotídicas en los tripletes codificantes del aminoácido 102 fueron TGG→CGG en *E. coli* y *K. pneumoniae* y TGG→AGG en *K. oxytoca*. La cepa de *K. oxytoca* contenía simultáneamente los genes qnrS1 y aac(6')-Ib-cr.

Conclusiones: El gen aac(6')-Ib-cr se encuentra ampliamente distribuido en las cepas de *E. coli* y *Klebsiella* productoras de CTX-M-15, detectándose también en CTX-M-32 positivas. Se destaca la coexistencia de qnrS1 y aac(6')-Ib-cr en una cepa de *K. oxytoca*.

40

RESISTENCIA ANTIBIÓTICA PRIMARIA DE *HELICOBACTER PYLORI* Y SENSIBILIDAD FRENTE OTRAS ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS

F. Franco¹, J.H. García¹, A. Duque¹, R. Sáenz² y R. Perea¹

¹Unidad de Microbiología, ²Unidad de Aparato Digestivo. Hospital General de RíoTinto. Huelva.

Introducción: *Helicobacter pylori* está relacionado con diferentes enfermedades digestivas. La implicación de esta bacteria en la gastritis crónica activa, el linfoma tipo MALT, su asociación con la úlcera gastroduodenal y su inclusión como agente carcinógeno tipo 1, lo ha convertido en un microorganismo de gran interés en patología humana. Por ello, creemos que es necesario el conocimiento de la sensibilidad o resistencia a los distintos antimicrobianos, empleados para el tratamiento de la infección y erradicación de *Helicobacter pylori*.

Material y método: Se procesaron un total de 155 biopsias gástricas durante el año 2007, pertenecientes a los diferentes pacientes que fueron remitidos para esofago-gastroscopia por presentar síntomas del tracto gastrointestinal superior. Las muestras recogidas pertenecían a 80 hombres y 75 mujeres cuyas edades se encontraban en un rango de 18 a 88 años, con una edad media de 55 años. Se realizó biopsia gástrica a todos aquellos pacientes que presentaron una clínica

de dispepsia ulcerosa crónica y lesión endoscópica. Las biopsias fueron remitidas al laboratorio de Microbiología y se le realizó la prueba de la ureasa en tubo, una tinción de gram y cultivo en medios selectivos para *Helicobacter pylori*, que fueron incubados durante cinco días en condiciones de microaerofilia a 37°C. Los diferentes aislamientos fueron sometidos a pruebas de susceptibilidad antibiótica mediante E-test según las normas de la CLSI frente a los siguientes antimicrobianos: amoxicilina, claritromicina, metronidazol, levofloxacino y rifampicina.

Resultados: Se aisló *Helicobacter pylori* en el 42,3% (66) de las biopsias remitidas al laboratorio. En el 86,3% (57) de las muestras con cultivo positivo, se observaron en la tinción de gram formas compatibles con *H. pylori*. La prueba de la ureasa fue positiva en el 88% (58). Según los puntos de corte establecidos por el CLSI y BSAC, los valores de CMI50 y porcentaje de resistencia de los aislamientos estudiados frente a los antimicrobianos de primera línea son los siguientes: Para la claritromicina (0,016 µg/mL y 15%), amoxicilina (0,016 µg/mL y 0%) y metronidazol (>256 µg/mL y 57%). Los resultados obtenidos frente a los antimicrobianos alternativos fueron los siguientes: tetraciclina (0,016 µg/mL y 0%), levofloxacino (0,094 µg/mL y 15%) y rifampicina (0,75 µg/mL y 25%) respectivamente.

Conclusiones: La resistencia primaria frente a metronidazol fue superior a la media Europea y Española. Todos los aislamientos con resistencia primaria a claritromicina fueron sensibles tetraciclina y el 75% lo fue a levofloxacino. Podrían ser antimicrobianos útiles en terapias de rescate, en los fracasos de la erradicación de *H. pylori*.

41

CARACTERÍSTICAS DE LOS AISLAMIENTOS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORES DE BETA-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO EN LA ZONA OESTE DE MÁLAGA DURANTE UN PERÍODO DE 5 AÑOS

R. Rodríguez, A. Infante, MV. García, MM. Gallardo, F. Roper, A. Gutierrez, L. Mora, I. Viciano, M. Ortega y A. Pinedo
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario "Virgen de la Victoria" de Málaga.

Introducción: En los últimos años venimos asistiendo a un aumento progresivo de los aislamientos de *E. coli* productores de beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) con la consiguiente dificultad para el manejo de los pacientes portadores de las mismas.

Objetivos: Conocer la evolución y características clínico-epidemiológicas así como las resistencias asociadas en las cepas de *E. coli* portadoras de BLEE en nuestro medio.

Material-métodos: Realizamos un estudio retrospectivo durante un periodo de cinco años a partir de las muestras remitidas a nuestro laboratorio. Como método de identificación y sensibilidad se utilizó el sistema automatizado MicroScan Walkway (Dade Behring). La producción de BLEE fue confirmada mediante métodos de difusión en disco y E-test (Izasa) así como microdilución en paneles de diagnóstico de BLEE de MicroScan, siguiendo siempre las normas de la CLSI.

Resultados: Desde enero de 2003 a diciembre de 2007 se aislaron un total de 14082 *E. coli* de los cuales el 6,57% (925) eran cepas productoras de BLEE. Al analizar los datos obtenidos por año se ha observado un aumento progresivo en el aislamiento de estos gérmenes pasando de un 2,72% en el año 2003 al 9,69% en el año 2007. La mayoría de los *E. coli* BLEE tenían un origen extrahospitalario (61,51%), y aunque las orinas fueron las muestras donde se aislaron con mayor frecuencia (65,1%), casi un 9% procedían de muestras invasivas como hemocultivos. Las 925 cepas pertenecían a 727 pacientes, siendo en su mayoría mujeres (64,1%) frente a un 35,9% de hombres con una edad media de 64,5 años. En cuanto a los datos de sensibilidad la mayoría de las cepas de *E. coli* BLEE llevaban asociadas resistencia con otras fami-

lias de antibióticos siendo las fluoroquinolonas las más frecuentes (71,13%) seguida de trimetropin-sulfametoxazol (TXS) (54%), mientras que solo el 2,8% de los aislamientos eran resistentes a fosfomicina. Por otro lado, la combinación de resistencias más encontrada fue fluoroquinolonas más TXS en el 47,45% de los casos.

Conclusiones: Se ha producido un aumento importante de los aislamientos de *E. coli* BLEE desde al año 2003 al 2007 cercano al 7%. La mayoría de las cepas son de origen extra-hospitalario y fundamentalmente de muestras no invasivas. Hemos detectado un elevado nivel de corresponsencia entre los *E. coli* BLEE siendo las fluoroquinolonas la familia más afectada, mientras que fosfomicina se mantiene como una opción terapéutica de primera línea para las infecciones urinarias.

42

CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS Y SENSIBILIDAD BACTERIANA EN UN CENTRO SOCIOSANITARIO (2003-2006)

A. Calderón¹, B. Pascual² y E. Riu³

¹Sección de Microbiología, ²Servicio de Farmacia, Hospital Municipal de Badalona, ³Centro Sociosanitario El Carme, Centro Sociosanitario El Carme)

Objetivo: Comparar el consumo de antimicrobianos y la sensibilidad bacteriana durante el periodo 2003-2006 en el Centro Sociosanitario El Carme de Badalona.

Material y métodos: Estudio retrospectivo realizado durante un periodo de cuatro años (2003-2006). Se calcularon los consumos de Amikacina (AK), Amoxicilina-clavulánico (AMC), Ampicilina/Amoxicilina (AMP), Cefotaxima/Ceftiazoxona (CTX), Ceftazidima (CAZ), Ciprofloxacino (CP), Gentamicina (GM), Imipenem (IMP), Levofloxacino (LV), Piperacilina-tazobactam (PTZ) y Trimetoprim-sulfametoxazol (SXT) en Dosis Diarias Definidas (DDD) por 100 estancias/día. Se recogieron las sensibilidades antimicrobianas (S) de *E. coli*, *P. aeruginosa* y *E. faecalis*.

Resultados: En general se ha observado un aumento del consumo de los antibióticos estudiados, excepto para IMP y PTZ. Los incrementos de consumo (año 2006 con respecto al año 2003) para los distintos antibióticos han sido: del 1129% para CAZ, del 322% para AMP, del 307% para AK, del 196% para CTX, del 175% para LV, del 78% para SXT, del 48% para GM, del 29% para CP y del 27% para AMC. El estudio de sensibilidades evidencia, en general, un descenso de las mismas para *E. coli* y *P. aeruginosa*. En *E. coli* se objetiva una disminución en la sensibilidad para CTX y Aztreonam (96% a 85%), manteniendo sensibilidades por debajo del 85% con AMC (75%), GM (82%), CP (46%), AMP (22%) y SXT (45%). Para *P. aeruginosa* la sensibilidad de la CAZ pasa de 92% a 73%, la de GM baja de 62% al 53% y la del IMP desciende del 94% al 71%. Se observa un incremento de *E. faecalis* con alto nivel de resistencia a Gentamicina (40% al 70%), manteniéndose la sensibilidad de AMP (100%) y CP (30%).

Conclusiones: El análisis evolutivo del consumo de antibióticos y de las sensibilidades bacterianas parece indicar que para determinados antimicrobianos el aumento de su consumo repercute de forma negativa en las tasas de sensibilidad.

43

ESTUDIO DE LOS FENOTIPOS DE RESISTENCIA EN AISLADOS DE *H. INFLUENZAE* DURANTE EL AÑO 2007

L.M. Alba, A. Rueda, L. Garrido, P. Capón, M.L. Castillo y M. Lantero

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Central de Asturias.

Introducción: La mayoría de los *H. influenzae* resisten a ampicilina por producción de β -lactamasa (fenotipo BLPAR), pero en los últimos años se ha observado un aumento pro-

gresivo del número de aislados con resistencia a ampicilina mediada por cambios en la estructura de las PBPs, con o sin producción de β -lactamasa (fenotipos BLNAR y BLPACR respectivamente).

Hemos realizado un estudio retrospectivo con la intención de revisar las resistencias a antimicrobianos de *H. influenzae* aislados en muestras con significado clínico en el HUCA entre el 1 de enero y el 31 de diciembre de 2007. Los resultados se compararon con los de los años 2002-2006.

Material y métodos: Se incluyeron 168 *H. influenzae* aislados en 4 hemocultivos, 46 aspirados traqueobronquiales (AT), 3 lavados broncoalveolares, 36 esputos, 58 exudados conjuntivales y 21 exudados óticos.

Se aplicaron los criterios del CLSI para interpretar los resultados de CMI obtenidos por microdilución en caldo HTM, con el sistema MicroScan (Dade-Behring®). La detección de la β -lactamasa se realizó por el test de la cefalosporina cromogénica.

Resultados: De los 168 aislados, 46 (27%) fueron resistentes a ampicilina, β -lactamasa positiva (fenotipo BLPAR). Otros 3 aislados (1 hemocultivo, 1 AT y 1 exudado conjuntival) fueron resistentes a ampicilina y a amoxicilina/clavulánico, β -lactamasa negativa (fenotipo BLNAR). Ninguno de los aislados tenía el fenotipo BLPACR. Todos fueron sensibles a cefotaxima, ciprofloxacino y rifampicina. 9% fueron resistentes a cefuroxima, 4% a cloranfenicol, 28% a cotrimoxazol y 2% a tetraciclina.

Conclusiones: 1. En nuestro hospital, las cepas de *H. influenzae* fenotipo BLPAR representan menos del 30% del total, y las fenotipos BLNAR y BLPACR están por debajo del 2%. 2. No se observaron cambios en la tasa de resistencia a los antimicrobianos potencialmente activos frente a *H. influenzae* con respecto al periodo 2002-2006.

44

DETECCIÓN DE LA CARBAPENEMASA VIM-2 EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *P. AERUGINOSA* EN LA CLÍNICA UNIVERSITARIA DE NAVARRA (PAMPLONA)

M. Íñigo¹, M.C. Rodríguez², S. Sánchez-Gómez³, M. Fernández-Alonso¹, G. Martínez de Tejada², L. Martínez² y J. Leiva¹

¹Servicio de Microbiología, Clínica Universitaria de Navarra.

²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

³Departamento de Microbiología. Universidad de Navarra. Pamplona, Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción y objetivos: La resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a carbapenemes se ha establecido como un problema de impacto universal debido a su dificultad terapéutica y a su rápida propagación. La presencia de Metallo- β -lactamasas (M β L) confiere el más amplio espectro de resistencia. El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de M β L (tipo VIM, GIM, SIM, SPM e IMP) en aislamientos clínicos de *P. aeruginosa* resistentes a carbapenemes en nuestro centro hospitalario.

Métodos: Se estudiaron 21 cepas clínicas de *P. aeruginosa* resistentes o intermedias a Imipenem (IMP) y/o Meropenem (MPM) aisladas en nuestro hospital en el periodo comprendido entre Enero 2003 y Junio 2007. La relación clonal se determinó mediante REP-PCR. La identificación y estudios de sensibilidad preliminares se realizaron con el sistema automatizado Vitek 2. La producción de M β L fue detectada fenotípicamente con las tiras de Etest (IMP-IMP/EDTA) y por el método de microdilución comparando las CMI de IMP y MPM solos o en combinación con una mezcla de EDTA 0.4mM y 1,10-fenantrolina 0,04 mM (EDTA.Ph). Un ratio de CMI de IMP (o MPM)/IMP (o MPM) más EDTA.Ph igual o superior a 8 fue considerado positivo. Además, la hidrólisis de IMP solo o en combinación con EDTA (5mM) se determinó espectrofotométricamente. Los genes codificantes para M β L fueron detectados mediante una PCR múltiple (Mendes R et al, JCM 2007) y posterior

secuenciación de los amplicones. Se usaron como controles cepas productoras de las MβL tipo VIM-2, IMP-13, SIM-1, GIM-1 y SPM-1.

Resultados: Tanto el método de la microdilución como las tiras de Etest indicaron la presencia de MβL en un único aislamiento (CN3). Sin embargo, usando PCR múltiple y secuenciación de los amplicones, se detectó la presencia del gen bla_{VIM-2} en dos aislamientos no relacionados clonalmente (CN3 y CN5). La presencia del gen bla_{VIM-2} en CN5 fue detectada en 3 ensayos diferentes, usando tanto la PCR múltiple como la sencilla con primers específicos para los genes bla_{VIM-2}. Para CN3 y CN5, las CMIs de IMP, IMP-EDTA.Ph, MPM y MPM-EDTA.Ph fueron 128, 2, 64 y 2, y 64, 64, 32 y 32, respectivamente. La hidrólisis de IMP se detectó espectrofotométricamente sólo en el aislamiento CN3.

Conclusiones: El gen bla_{VIM-2} fue detectado en dos aislamientos clínicos de *P.aeruginosa* en Navarra pero sólo en un caso la enzima VIM-2 fue la responsable de la resistencia a los carbapenemes.

45

ESTUDIO DE PREVALENCIA DE COLONIZACIÓN POR ENTEROCOCCO RESISTENTES A LA VANCOMICINA EN EL SERVICIO DE NEFROLOGÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE CANARIAS

S. Campos, M.I. Montesinos, T. Delgado, M.J. Ramos, M. Cuervo, M. Lecuona, M.A. Miguel, A. Torres, B. Castro, Y. Pedrosa, M. Hernández y A. Sierra

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Canarias

Objetivo: Conocer la prevalencia de colonización por enterococos resistentes a la vancomicina (ERV) en pacientes hospitalizados en el servicio de nefrología de nuestro hospital, dónde tubo lugar un brote en el año 2005 con 14 pacientes involucrados.

Material y métodos: Se tomaron torundas rectales a 19 pacientes, a 13 de ellos se les tomó muestra en dos días alternos y a 6 sólo un día. Las torundas rectales se sembraron en 3 medios de cultivo: Agar chromoIDTMVRE[®] (AChVRE) (bio-Mérieux) el cual es un nuevo medio cromogénico y selectivo para la detección de *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) y *E. faecalis* (*E. faecalis*) resistentes a la vancomicina, el medio Slanetz Barley[®] (SB) al que añadimos discos de vancomicina y Brain-Heart Infusion Broth[®] (BHI) al cual le añadimos vancomicina y tras 24 horas de incubación se subcultivó en AChVRE. Todos los medios se incubaron durante 24 y 48 h. A cualquier colonia sospechosa se le realizó gram, e identificación por el sistema Vitek[®] (bioMérieux).

Resultados: En ninguno de los pacientes se aisló ni *E. faecium* ni *E. faecalis* resistentes a la vancomicina, sólo se encontraron dos *E. gallinarum* pertenecientes a dos pacientes distintos, uno se aisló después de 24 h de incubación del subcultivo en AChVRE del BHI, el otro se aisló del medio AChVRE a las 48 h. En el medio AChVRE crecieron colonias verdes y violetas que podría ser interpretadas como *E. faecium* y *E. faecalis* resistentes a la vancomicina pero fueron identificadas como levaduras (6 de 32 cultivos) y bacilos gram negativos (2 de 32 cultivos), en el SB crecieron colonias en el interior del halo de inhibición del disco de vancomicina que se identificaron como *Pediococcus* spp (2 de 32 cultivos) y bacilos gram negativos (3 de 32). Lo mismo ocurrió a las 48h con el subcultivo en AChVRE del BHI.

Conclusiones: No encontramos pacientes portadores de *E. faecalis* ni *E. faecium* resistentes a la vancomicina. Se aislaron dos *E. gallinarum* con bajo nivel de resistencia intrínseca a vancomicina (vanC), pero carecen de la importancia epidemiológica en el ambiente hospitalario que tienen *E. faecium* y *E. faecalis* cuando adquieren resistencia a glicopéptidos. El medio AChVRE es un buen medio selectivo para ERV teniendo en cuenta que a las 48h crece flora indeseada que dificulta la interpretación del mismo.

46

ADQUISICIÓN ESPORÁDICA DE RESISTENCIA A GLICOPÉPTIDOS POR CLONES PERSISTENTES Y ENDÉMICOS DE ENTEROCOCCUS FAECIUM RESISTENTE A AMPICILINA EN UN MISMO HOSPITAL DURANTE DIEZ AÑOS

P. Ruiz-Garbajosa¹, G. Cárdenas², M.E. Santos³, R. Cantón¹, F. Baquero¹ y T.M. Coque¹

¹Servicio de Microbiología, ²Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

³Zurita&Zurita Laboratorios, Quito, Ecuador. ³Facultad de Farmacia, Universidad de Oporto, Portugal.

Introducción: El aumento de las infecciones nosocomiales causadas por *Enterococcus faecium* resistente a ampicilina (EfmRA) se ha asociado con la expansión del Complejo Clonal de alto riesgo (CCAR) CC17 que agrupa la mayor parte de los brotes hospitalarios por *E. faecium* resistente a glicopéptidos (EfmRG). Nuestro objetivo fue la caracterización molecular de los aislados de EfmGR de la última década en un área con baja incidencia de resistencia y en ausencia de brotes epidémicos.

Material y métodos: Se analizaron 11 de las 15 cepas de EfmRG detectadas durante el periodo 1996-2006 en el Hospital Ramón y Cajal. Como grupo control se incluyó una colección de EfmRA de aislados de hemocultivos (Hc, n=49) y muestras fecales de individuos colonizados (n=11) aislada entre 2001-2006. El estudio de clonalidad se realizó mediante PFGE-SmaI y se investigó entre los clones detectados la presencia del alelo purk-1 asociado a CC17. El análisis estructural de Tn1546 (vanA) y Tn1547 (vanB) se realizó por Long-PCR de vanRSHAXYZ (11kb) y vanRSYWHBX (6Kb), posterior digestión de los productos obtenidos con ClaI y BspHI/DraI, respectivamente y comparación de los patrones generados, incluyéndose controles de Tn1546 y Tn1547 en los ensayos.

Resultados: En el periodo de estudio se aislaron EfmRGm de 15 pacientes (VanA, n=5 y VanB, n=10). Un 40% estaban ingresados en servicios médicos, 33% quirúrgicos y un 27% en UCIs. EfmRG se recuperó de muestras invasivas (5 hemocultivos y 1 líquido orgánico) en 6/15 pacientes (40%). Todos los aislados presentaron co-resistencia a ampicilina y ciprofloxacino. El análisis de clonalidad de 11 EfmRG reveló 3 pulsotipos correspondientes a CC17 (Efm-A, B, C). El clon Efm-B agrupó al mayor número de EfmRG (n=6, VanB, n=5) aislados en periodo 2003-2005 y fue el detectado con mayor frecuencia entre los EfmRA procedentes de Hc (n=9). El clon Efm-A agrupó a un aislado VanA (1998) y EfmRA procedentes de Hc (n=5) y colonización a (n=5) (2001-2006). Los Tn1546 y Tn1547 analizados presentaron perfiles de restricción idénticos entre sí y correspondientes a las estructuras tipo de estos elementos.

Conclusiones: La resistencia a vancomicina en enterococos en nuestro entorno está favorecida por la presencia de clones EfmAR endémicos pertenecientes al CCAR-CC17 que adquieren ocasionalmente elementos transferibles que contienen Tn1546 o Tn1547. La escasa incidencia de EfmGR sugiere una baja estabilidad de estos elementos de resistencia entre los clones endémicos.

47

PERSISTENCIA CLONAL Y EXPANSIÓN DE ENTEROCOCCUS FAECIUM CC17 CAUSANTE DE BACTEREMIA (MADRID, 1995-2006)

G. Cárdenas-Zurita¹, P. Ruiz-Garbajosa², R. Cantón², F. Baquero² y T.M. Coque²

¹Zurita&Zurita Laboratorios, Quito, Ecuador, ²Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España. ²Servicio de Microbiología.

Objetivo: El objetivo del estudio fue analizar la estructura poblacional de *E. faecium* (Efm) causante de bacteriemia en

los dos últimas décadas en un área con elevada prevalencia de resistencia a ampicilina (RA) y baja prevalencia de resistencia a vancomicina.

Material y métodos: Se analizaron 59 aislados de hemocultivos (Hc) de 59 pacientes (2003-2006) que fueron comparados con 86 aislados de Hc de 84 pacientes (1995-2002) previamente caracterizados (Coque et al., AAC, 2005; 49). La sensibilidad a 12 antibióticos fue determinada por microdilución (CLSI). La relación clonal se estableció mediante PFGE y se investigó la presencia del alelo purK-1 asociado con el complejo clonal CC17. Los clones persistentes fueron caracterizados por MLST. Los factores de virulencia/epidemicidad *esp* e *hyl* fueron identificados por PCR.

Resultados: Comparando los periodos 2003-2006 y 1995-2002, se ha producido un incremento de la resistencia a ampicilina (83% vs 62%), eritromicina (97% vs 76%), resistencia de alto nivel (RAN) a estreptomycin (80% vs 55%), RAN-kanamicina (80% vs 64%) y resistencia a vancomicina (Vc; 8% vs 3%) que fue significativo para todos los antibióticos con la excepción de Vc ($p \leq 0,05$). La mayoría de Efm-RA fueron resistentes a macrólidos, quinolonas y aminoglicósidos. Los 59 Efm estudiados se distribuyeron en 36 pulsotipos (27 EfmRA y 10 EfmSA) identificándose 4 clones persistentes: Efm-T (n=12 EfmRA), en Hc de 16 pacientes de 2001-06; Efm-D (n=6; 5 EfmRA), en Hc de 21 pacientes de 1997-2006; Efm-A (n=3 EfmRA), en Hc de 1995-2005; Efm-3 (n=4 EfmRA) identificado en Hc de 2005. Todos los clones Efm-RA presentaban purK-1 asociándose los clones Efm-T, -D y -A con las secuencias tipo ST16 (T) y ST18 (A, D) dentro de CC17. Los pacientes infectados por clones T, D y A se encontraban hospitalizados en servicios quirúrgicos y médicos localizados en un área hospitalarias relacionadas. La presencia de *esp* y *hyl* fue identificada en aislados de los clones T y D.

Conclusiones: Se describe un incremento de resistencia a ampicilina en Efm causantes de bacteriemia en el periodo 2003-2006, que refleja una expansión de CC17. La persistencia de clones endémicos portadores de potenciales determinantes de virulencia en áreas de alto riesgo podría favorecer la diseminación de Efm-VR, como sucede en otros países europeos. La baja incidencia Efm-VR indica que factores no asociados al tipo clonal son también importantes en la diseminación de resistencia a glicopéptidos.

48

ESTRUCTURA POBLACIONAL Y ANÁLISIS MOLECULAR COMPARATIVO DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* RESISTENTE A VANCOMICINA (EFCRV) ASOCIADOS A BROTES NOSOCOMIALES EN EUROPA Y AMÉRICA

P. Ruiz-Garbajosa¹, A. Freitas², M. Zervos³, S. Donabedian³, R. Cantón¹, F. Baquero¹ y T.M. Coque¹

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España. ²Facultad de Farmacia, Universidad de Oporto, Portugal. ³Hospital Henry Ford, Michigan, EEUU, Division of Infectious Diseases.

Introducción: El objetivo de este trabajo fue analizar la estructura poblacional y los elementos de transmisión horizontal responsables de la resistencia a glicopéptidos en aislados de EfcRV causantes de brotes nosocomiales en diversas áreas de Europa y América.

Material y métodos: Se estudiaron 28 aislados de EfcRV (16 VanA y 12 VanB) causantes de brotes hospitalarios en Europa (Chipre, Italia, España, Portugal, Serbia y Reino Unido) (n=8) y América [Estados Unidos, (EEUU) y Argentina] (n=20) entre los años 1999 y 2003. La estructura poblacional de este conjunto de aislados fue analizada empleando MLST. El análisis estructural de los transposones Tn1546 y Tn1547 se realizó mediante la amplificación por PCR de los elementos vanRSHAXYZ y vanRSYWHBX y posterior digestión de los fragmentos de amplificación con ClaI y BspHI/DraI respectivamente. La hibridación con sondas es-

pecíficas mediante la técnica de Southern blot tras la digestión del ADN genómico con I-CeuI permitió determinar la localización cromosómica o plasmídica de los genes *vanA* y *vanB* mientras que tras la digestión con S1-nucleasa se estimó el número y peso molecular de los plásmidos que portaron dichos elementos de resistencia.

Resultados: Los 28 aislados de EfcRV se distribuyeron en los 3 complejos clonales (CCs) y en 3 tipos de secuencia (ST) diferentes. En América, se detectó el CC9 en Argentina (n=1), CC2 en EEUU (n=15 12 VanB y 3 VanA) y 3 STs (n=5). En Europa se detectaron los complejos CC2 (España, n=1; Italia n=2), CC9 (España, n=2) y CC87 (Reino Unido, n=1; Chipre, n=1 y Serbia, n=1). La mayoría de las cepas VanA (13/16) y VanB (9/12) presentaron la estructura completa del Tn1546 y Tn1547, respectivamente. En todos los EfcRV el gen *vanB* (n=12) se localizó en el cromosoma mientras que *vanA* se asoció a plásmidos de diferentes tamaños (48-145kb). En EU se detectó la diseminación de un plásmido de 48kb y en Europa uno de 97kb.

Conclusiones: Se ha detectado la agrupación de EfcRV asociados a brotes nosocomiales en ciertos CCs adaptados al ambiente hospitalario. El análisis de los elementos genéticos que portan los genes *vanA* y *vanB* mostró estructuras conservadas con localización cromosómica en el caso de *vanB* que podría explicar la expansión de una determinada línea genética (CC2) mientras que *vanA* se asoció a plásmidos altamente diseminados en un mayor número de CCs.

49

IDENTIFICACIÓN DE LOS MECANISMOS DE MULTIRRESISTENCIA PRESENTES EN CLONES GENÉTICAMENTE RELACIONADOS DE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* VANB2 CC17

S. Valdezate^{1,2}, C. Labayru³, A. Navarro¹, M.A. Mantecón³, N. Garrido¹, M. Ortega³, M. García³ y J.A. Sáez-Nieto¹

¹Departamento de Bacteriología, ²Unidad de Alerta y Emergencia, Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. ³Servicio de Microbiología, Hospital General Yagüe. Burgos.

Introducción: Durante un periodo de 10 meses se aislaron cepas de *Enterococcus faecium* resistentes a vancomicina (VREF) en pacientes hospitalizados en las unidades de Cirugía General, Medicina Interna y UCI del Hospital General Yagüe (Burgos). Los objetivos del estudio fueron: la caracterización de los clones de VREF y la identificación de los genes de virulencia y de los mecanismos moleculares de resistencia.

Material y métodos: Las cepas VREF detectadas (n=48, torunda rectales, 40; heridas post-quirúrgicas, 4; absceso y drenaje abdominal, 2; orina, 1; líquido ascítico, 1) fueron caracterizadas mediante PFGE, MLST y MLVA. Se estudiaron los genes de virulencia y epidemiciad *esp*, *hyl*, *asa1*, *cyl* y *gelE*. El fenotipo de resistencia presentado Van- Q/D- Amp-Eri- Cip-Str-Cn- Ak- To determinó el estudio molecular de los genes implicados mediante amplificación y secuenciación: *vanA*, *vanB*, *vanC-1*, *vanC-2/3*, *vanD* y genes relacionados: *vanS_B-vanY_B*, *vanX_B-ORFC*, *pbp5-Tn5382* y *Tn5382-like*; *vatD*, *vatE*, *msrC*, *vgb(A)* y *ermB*; *mefA/E*, *erm(A)*, *erm(B)* *erm(C)*; *tetM*; *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(3')-IIIa* y *ant(6)-Ia*; *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*

Resultados: Mediante PFGE, se identificaron 8 clones VREF con un rango de similitud genética 54%-97%. Los clones 1 y 2 (92%) y los clones 3,4,5,6,7 (97%-84%) se hallaban estrechamente relacionados, siendo el clon 1 el mayoritario (76,6% pacientes). Todos los clones presentaron idéntico MLVA-tipo MT-1 y MLST tipo ST-17 (CC17). Los genes de virulencia detectados fueron: *esp* en todas las cepas; *hyl* en 4 cepas del clon 1, en 1 cepa de los clones 4, 5 y 8. El mecanismo de resistencia a glicopéptidos fué del tipo *vanB2* (cambio 151-Ile), con completa identidad de las secuencias Tn5383 y de *vanS_B-vanY_B* y *vanX_B-ORFC* con otras descritas, e identidad del 99% del gen *pbp5* – resistencia a ampi-

cilina - respecto secuencia VREF X92687.1. Otros mecanismos de resistencia detectados fueron: quinupristina-dalfopristina:ermB; macrólidos y lincosamidas: mefA y ermB; tetraciclina: tet(M)subgrupo II; aminoglicósidos: ant(6')-Ia, aph(2')-Id y aac(6?)-Ie-aph(2')-Ia; fluoroquinolonas: mutaciones en GyrA (clones 1-7: 83-Tyr; clon 8: 83-Arg), mutaciones en ParC (61-Gly, 80-Ile), sin cambios en GyrB y ParE.

Conclusión: La presencia y diseminación de clones de *E. faecium* CC17 vanB2 con capacidad epidémica y de multiresistencia constituye uno de los actuales problemas microbiológicos en el ámbito hospitalario.

50

PROYECTO MIURA: EFECTO SOBRE LA EVOLUCIÓN DEL CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS

J. Colomina¹, G. Sarrió², V. Domínguez¹, N. Orta¹ y A. Guerrero¹
Servicios de ¹Microbiología y de ²Farmacia Hospitalaria.
Hospital Universitario de La Ribera. Alzira (Valencia).

Introducción y objetivo: A finales de 2003 comenzó a desarrollarse, en el Departamento de Salud 11 de la Comunidad Valenciana, el proyecto MIURA (Modelo Integrado para el Uso Racional de Antimicrobianos), en el cual, mediante diversos tipos de intervenciones (jornadas de formación en enfermedades infecciosas, tasas de resistencias bacterianas locales, boletines, posters, cuñas publicitarias en radio, etc.) se pretendía mejorar el uso de antibióticos en nuestra área de salud. El objetivo del presente trabajo ha sido analizar la evolución del consumo de antibióticos y valorar la repercusión de la implantación del MIURA.

Material y métodos: Se realizó un estudio del consumo de antibióticos durante los años 2000-2006. Todos los antibióticos seleccionados estaban incluidos en el grupo J01 (antibacterianos sistémicos); en ningún caso se seleccionaron antivirales, antimicóticos y antimicrobianos. La información sobre el consumo de antibióticos se obtuvo a través de la aplicación GAIA (Dirección General de Prestación Farmacéutica, Conselleria Sanitat, Generalitat Valenciana); únicamente se consideró la dispensación de recetas médicas, sin incluir dispensación farmacéutica libre ni la práctica privada; como unidad técnica de medida se empleó la DHD (dosis diaria definida/1.000 habitantes/día). El análisis de consumo se efectuó por años y se consideraron los principales antibióticos utilizados.

Resultados: Observamos unas tasas de consumo elevadas (> 20DHD/año), con un claro ascenso durante el año 2003 (Tabla). Desde la implantación del proyecto MIURA y hasta el 2006, se ha detectado un descenso global de 4.06 DHD en el consumo medio de antibióticos.

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Penicilinas	11,57	10,35	10,75	11,45	11,09	11,95	11,46
Cefalosporinas	4,46	4,11	4,16	4,62	4,12	4,21	3,76
Macrólidos	5,62	5,08	5,71	5,73	4,73	4,34	2,98
Quinolonas	3,27	3,46	3,43	3,38	3,23	3,33	3,08
Otros	1,97	2,05	2,06	2,02	2,99	1,98	1,89
TOTAL	26,89	25,05	26,11	27,20	26,16	25,81	23,17

El grupo terapéutico más consumido es el de los beta-lactámicos, fundamentalmente el subgrupo de las penicilinas. En la evolución del consumo destaca una disminución del uso de macrólidos en los últimos tres años. Por principios activos, el antibiótico más utilizado es la amoxicilina-clavulánico, seguido de otros b-lactámicos orales como ampicilina/amoxilina y cefuroxima; la penicilina, sin embargo, se usa escasamente. Claritromicina es el macrólido más utilizado. Ciprofloxacino es la quinolona más consumida, aunque se detecta un claro descenso en los últimos años a expensas de otras fluorquinolonas más recientes como levofloxacino y moxifloxacino.

Conclusiones: Durante el periodo de estudio, la implantación, mantenimiento y consolidación del proyecto MIURA está influyendo positivamente en la disminución del consumo de antibióticos en nuestra área de salud, como demuestra el descenso en DHD en los últimos años.

51

TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE ACINETOBACTER BAUMANNII EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

M.E. Cano¹, J. Calvo¹, C. Fernández-Mazarrasa¹, B. Ruiz del Castillo¹, I. Monteagudo¹, M. Romo¹ y L. Martínez-Martínez^{1,2}

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. ²Departamento de Biología Molecular, Universidad de Cantabria.

Objetivos: Estudiar la relación clonal de los aislados de *A. baumannii* obtenidos en nuestro centro entre enero-04 y junio-07 y comparar los perfiles de resistencia a los antimicrobianos entre los distintos patrones obtenidos por tipificación molecular.

Material y métodos: Se han estudiado todos los aislamientos de *A. baumannii* procedentes de muestras clínicas (no se incluyen estudios de vigilancia epidemiológica) obtenidos en el H. U. Marqués Valdecilla (Santander) entre enero-04 y junio-07. La identificación se realizó con el sistema MicroScan, confirmando por ARDRA en una muestra representativa de aislados. La relación clonal de los aislados (1 por paciente) se evaluó por REP-PCR y (para aislados representativos de los diferentes patrones) PFGE. La sensibilidad a los antimicrobianos se estudió con MicroScan y, para un grupo de aislados (n=85), también mediante microdilución (CLSI).

Resultados: En el periodo de estudio se han identificado 1251 aislados de *A. baumannii*, de los que se analizaron 351 por REP-PCR, procedentes de: hemocultivos (42), otros líquidos estériles (13), orina (37), muestras respiratorias (124), heridas (92) y otras muestras (43). Se identificaron 73 patrones de REP-PCR (dos o más bandas de diferencia). Cuatro de estos patrones incluían 245 aislados (72%): patrón I (117 aislados), patrón X (93), patrón XVII (32) y patrón XXIV (13). Todos los aislados del patrón I se identificaron entre enero-04 y septiembre-05, representando el 69% del total de *A. baumannii* analizados de ese periodo. De los 93 aislados del patrón X, 89 (96%) se obtuvieron entre diciembre-06 y junio-07 (79% de los *A. baumannii* de ese periodo). Por otra parte, los aislados de los otros dos patrones mayoritarios se aislaron esporádicamente entre septiembre-04 y febrero-07 (patrón XVII) y entre julio-05 y marzo-07 (patrón XXIV). *A. baumannii* se aisló en pacientes ingresados en 30 unidades del Hospital. 162 de los 351 (46%) aislados correspondían a pacientes ingresados en UCI. Los porcentajes de sensibilidad de los aislados de los patrones mayoritarios I-X-XVII-XXIV fueron de 0-1-0-100 (meropenem), 76-4-15-100 (amikacina), 0-6-92-92 (ceftazidima), 0-2-0-8 (ciprofloxacino) y 96-4-15-100 (cotrimoxazol).

Conclusiones: En nuestro centro hemos observado una epidemia policlonal por *A. baumannii*. A lo largo de los 42 meses de estudio, han persistido 4 clones principales (tres de cepas multiresistentes), de los cuales 2 han sido responsables de sendos brotes.

52

ANÁLISIS DE RESISTENCIAS BACTERIANAS VERSUS CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS INTRAHOSPITALARIOS

J. Colomina¹, V. Domínguez¹, N. Orta¹, A. Sánchez² y A. Guerrero¹

Servicios de ¹Microbiología y de ²Farmacia Hospitalaria.
Hospital Universitario de La Ribera, Alzira (Valencia).

Introducción y objetivo: El objetivo del presente estudio ha sido describir y analizar el consumo de antibiótico y las

tasas de resistencia bacteriana durante un periodo de 6 años a través de determinadas bacterias multirresistentes.

Material y métodos: Ámbito de estudio: Hospital de La Ribera (hospital de referencia del Departamento de Salud 11 de la Comunidad Valenciana; censo: 235.000 habitantes. Tipo de estudio: retrospectivo. Periodo: 2000-06. Diseño y mediciones: la información sobre el consumo intrahospitalario de antibióticos se obtuvo a través del Servicio de Farmacia Hospitalaria; como unidad técnica de medida de consumo se empleó DHD (dosis diaria definida)/1.000 habitantes/día) por 100 estancias/día. Los datos de resistencias bacterianas en pacientes ingresados fueron proporcionados por el Servicio de Microbiología. Los microorganismos y antibióticos analizados fueron: *Pseudomonas aeruginosa* y *A. baumannii* e imipenem, *E. cloacae* y ceftazidima, *E. coli* y ciprofloxacino, *E. coli/Klebsiella pneumoniae* productores de BLEE y cefalosporinas de 3ª generación, y *S. aureus* y cloxacilina. La identificación de los aislados y los estudios de sensibilidad se realizaron de forma semiautomatizada (MicroScan, Dade-Behring).

Resultados:

Tabla 1. Evolución del % de resistencias (número total de aislamientos).

Bacteria	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
<i>P. aeruginosa</i>	28	55	45	58	52	62	61
R-imipenem	(126)	(183)	(174)	(205)	(159)	(149)	(150)
<i>A. baumannii</i>	0	17	16	0	7	37	2
R-imipenem	(3)	(12)	(13)	(3)	(60)	(95)	(52)
<i>E. cloacae</i>	20	24	16	33	29	28	24
R-ceftazidima	(34)	(29)	(50)	(60)	(34)	(47)	(37)
<i>E. coli</i>	21	26	29	36	34	33	40
R-ciprofloxacino	(228)	(280)	(290)	(301)	(314)	(256)	(277)
<i>E. coli</i>	1	3	3	3	9	15	16
BLEE+	(228)	(280)	(290)	(301)	(314)	(256)	(277)
<i>K. pneumoniae</i>	4	6	6	1	1	19	49
BLEE+	(23)	(36)	(34)	(39)	(32)	(47)	(83)
<i>S. aureus</i>	37	20	24	22	13	34	42
R-meticilina	(103)	(80)	(88)	(99)	(81)	(102)	(34)

Tabla 2. Evolución del consumo de antibióticos (DHD/100 estancias/día).

Antibiótico	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Amoxicilina-Clavulánico	31,68	36,01	35,38	38,95	49,05	49,43	37,09
Cloxacilina	0,18	1,52	0,68	0,78	0,81	0,61	0,61
Cefalosporinas 3ª generación	0,77	0,39	1,46	1,45	0,77	0,44	9,61
Imipenem	1,69	1,99	1,97	1,31	2,24	2,80	3,54
Ciprofloxacino	7,70	6,35	5,75	5,94	1,62	7,07	8,04

Conclusiones: El incremento del consumo intrahospitalario de imipenem puede haber influido en el incremento de las tasas de resistencias bacterianas de *P. aeruginosa* R-imipenem. Este hecho también se evidencia en el caso de las cefalosporinas de 3ª generación y el incremento de *E. coli* BLEE+, ya que la presión selectiva ejercida por su consumo podría favorecer la diseminación de estas cepas resistentes.

53

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UN BROTE POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORA DE TEM-4 EN UNA UCI NEONATAL

C. Velasco¹, J. Rodríguez-Baño³, L. García³, P. Díez², C. Lupión³, L. Durán⁴ y A. Pascual²

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina.

Universidad de Sevilla. ²Servicio de Microbiología,

³Enfermedades Infecciosas y ⁴Neonatología, Hospital Virgen Macarena. Sevilla.

Introducción: *Klebsiella pneumoniae* productor de BLEE es un patógeno de importancia creciente en las unidades neonatales. Se describe la epidemiología molecular de un brote

de infección /colonización por *K. pneumoniae*, en una unidad neonatal, que consiguió erradicarse.

Material y métodos: Desde la detección del caso índice (Agosto 2005) se inició un programa de control que incluyó cultivos de cribaje a los pacientes ingresados, precauciones de contacto, limpieza ambiental y refuerzo de personal. La identificación se realizó mediante el sistema API 20E y la sensibilidad a los antimicrobianos mediante microdilución. La producción de BLEE se confirmó mediante difusión con doble disco. La relación genética de los aislados se estudio mediante electroforesis en campo pulsado. La caracterización del enzima se efectuó mediante pI, PCR, conjugación y secuenciación. El análisis plasmídico se realizó mediante electroforesis y Southern-RFLP con una sonda de bla^{TEM-4}.

Resultados: Durante el brote ingresaron 503 pacientes en la unidad; se realizó frotis rectal a 444 (88%) de ellos y 161 resultaron colonizados por *K. pneumoniae* productor de BLEE (36% de los ingresados estudiados). Solo 15 (9% de los colonizados) desarrollaron una infección, y ninguno falleció como consecuencia de ésta. La evolución de la curva epidémica mostró una evolución en dos olas (agosto-diciembre 2005 y enero-marzo 2006) con una reducción del número de casos nuevos entre ambas, hasta su erradicación en marzo 2006. Para tipación molecular se estudiaron 47 aislados que incluyeron todos los aislados clínicos más un aislado semanal obtenido de muestras de vigilancia. Los aislados se agrupaban en dos clones (A y D), distribuidos cada uno en una de las dos etapas del brote. Los aislados del clon A eran sensibles a cotrimoxazol mientras que los del D eran resistentes. Los aislados de ambos clones producían SHV-11 y TEM-4 (pI 7.6 y 5.4 respectivamente). Los plásmidos analizados tienen tamaños y perfiles hibridación en Southern-RFLP muy similares. No se detectó SHV-11 en los transconjugantes.

Conclusiones: El brote fue causado por la diseminación inicial de un clon de *K. pneumoniae* que fue sustituido por otro clon, expresando ambos SHV-11 y TEM-4. El análisis plasmídico preliminar indica que TEM-4 se localizaba en un mismo plásmido transferido horizontalmente entre ambos clones.

54

SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *NEISSERIA GONORRHOEA* EN EL ÁREA SANITARIA 6 DE MADRID

R. Millán, R. Martínez-Ruiz, B. Orden y *E. Agudo

Servicio de Microbiología, H.U. Puerta de Hierro,

(C.E. Argüelles), Madrid. *Universidad Europea de Madrid.

Objetivo: Conocer el número y sensibilidad antibiótica de las cepas de *N. gonorrhoeae* aisladas en muestras genitales en el Área Sanitaria 6 de Madrid, durante un periodo de 8 años (2000-2007).

Material y métodos: Estudio retrospectivo de los aislamientos de *N. gonorrhoeae* en exudados uretrales, endocervicales y vaginales, desde el 1 de enero de 2000 hasta el 31 de diciembre de 2007. Las muestras se sembraron en medios habituales y selectivos (Thayer-Martin o Martin-Lewis) y se incubaron en atmósfera de CO₂ durante 72 horas. Las colonias sospechosas se identificaron mediante la prueba de citocromo oxidasa y la galería Api NH (Biomerieux). Se estudió la sensibilidad a penicilina, cefotaxima, tetraciclina y ciprofloxacino, por el método de difusión disco-placa y la detección de betalactamasa se realizó con un disco de nitrocefina (Becton Dickinson).

Resultados: Se aislaron un total de 138 cepas de *N. gonorrhoeae* de muestras genitales. El 95,7% (132) de los aislados procedían de exudados uretrales, 2,9% (4) de exudados endocervicales y 1,4% (2) de exudados vaginales. El rango de edad de los pacientes fue de 17 a 75 años, la media de edad: 30,35 años, desviación estándar: 8,74. De los 138 pacientes, 61 (44%) fueron inmigrantes, procedentes de Centro y Sudamérica (37), África (16), Europa (5) y Asia (3). El número de

aislamientos ha ido aumentando a lo largo de los años desde 4 en el año 2000 hasta 36 el 2007.

La resistencia a penicilina fue 20,3% (28 cepas), el 80% de las cuales fueron productoras de betalactamasa; la resistencia a tetraciclina fue del 15,2% (21 cepas) y la resistencia a ciprofloxacino 18,1% (25 cepas). Todas las cepas fueron sensibles a cefotaxima.

Conclusiones: 1. Se observa un incremento de los aislamientos en exudados uretrales de *N. gonorrhoeae* a lo largo de los años revisados, pasando de un 2,2% en 2000 hasta un 9,8% en 2007. 2. La resistencia global a penicilina es del 20,3%, oscilando entre el 22,3% en 2000 y el 29,6% en 2006. 3. La resistencia global a tetraciclina es del 15,2%, oscilando entre el 8,4% en 2002 y el 21% en 2005. 4. Aparecen cepas resistentes a ciprofloxacino en el año 2004 (14,3%) y el porcentaje va aumentando hasta un 40,7% en 2006.

55

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LOS AISLADOS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM) DURANTE UN AÑO EN UN HOSPITAL DE SEGUNDO NIVEL

M.L. Villegas¹, C. Cortés-Lletget¹, M. González², J. Valencia¹, G. Calvo¹, F. Rubio¹, B. del Val Romero³, R. Clivillé Abad³ y C. Alonso-Tarrés³

¹Servicio de Medicina Interna, ²Enfermera de control de infecciones, ³Servicio de Microbiología, Hospital General de L'Hospitalet. L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona.

Objetivos: Estudio descriptivo de los aislados de SARM en función de la ubicación hospitalaria, del producto y del servicio en el 2007. Diferenciar entre muestras de cribado y clínicas.

Material y métodos: Se revisó el origen (hospitalización, urgencias o consultas externas). Se clasificó según el tipo de muestra y de que fueran de cribado o clínicas. Se excluyeron los aislados procedentes del mismo paciente en la misma muestra del mismo ingreso. Se estudió la presencia de leucocidina de Panton-Valentine (Genotype MRSA2.0 Hain) en los casos de infecciones cutáneas y respiratorias en los que se sospechó clínicamente, y en cepas sensibles al resto de los antibióticos. (Se someten a cribado por SARM a los pacientes que provienen de otras instituciones sanitarias y pacientes con antecedentes de cultivos positivos).

Resultados: Se aislaron 100 muestras positivas para SARM en 70 pacientes. Las de cribado (52) fueron el 52% (frotis nasal 49, perineal 3). La edad media fue de 76,1 años (18-94); en los pacientes con cribado positivo 80,5 y los de muestra clínica positiva 71,5 ($p = 0,00481$). El 51% fueron mujeres. En 18 se aisló SARM en más de una muestra. 80 aislados procedían de pacientes hospitalizados (80%), 13 de consulta externa (13%) y 7 de urgencias (7%). El 65% de las de cribado se solicitaron en servicios médicos. De las muestras clínicas, las de lesiones cutáneas fueron 28, las respiratorias 12, orina 4, sangre 3 y 1 exudado ótico. El 55% (15) de las cutáneas, procedían de Cirugía Vascular (8 en consultas externas y 7 en hospitalizados). Se aislaron 6 SARM en 5 pacientes ingresados en UCI: 3 en muestras respiratorias, 1 hemocultivo y 2 frotis nasales. Uno de ellos tenía una muestra respiratoria y 1 hemocultivo positivo. Se halló la leucocidina de Panton-Valentine en 3 cepas de un total de 7 en los que se estudió.

Conclusiones: 1. Edad media mayor en muestras de cribado. 2. La mayoría de muestras de lesiones cutáneas fueron de Cirugía Vascular. Este servicio constituye un foco importante de SARM a tener en cuenta. 3. La frecuencia de SARM en consultas externas y urgencias refleja, probablemente, una población de pacientes con contactos frecuentes con el sistema sanitario. 4. La baja frecuencia de SARM en las zonas de riesgo (UCI) y la alta proporción en muestras de cribado sugiere, por un lado, que la mayoría de las cepas se encuentran en el paciente en el momento del ingreso; y, por otro, una alta endemicidad en los centros de nuestra zona (socio-sanitarios y otros).

56

APLICACIÓN DE LOS MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS EN EL DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS (TB). NIVEL DE RESISTENCIAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

M. Moreno¹, J.A. Mirón¹, M. Alonso¹, J. Iglesias¹, C. Moyano² y M.C. Sáenz¹

¹Departamento de Medicina Preventiva, Salud Pública y Microbiología Médica, Hospital Clínico Universitario, Salamanca. ²Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Los Montalvos, Salamanca.

Introducción: Los métodos microbiológicos siguen constituyendo la única vía para confirmar el diagnóstico en TB. La aparición de *M. tuberculosis* resistente a los fármacos antituberculosos supone una amenaza para el control de la enfermedad, hecho íntimamente relacionado con los tratamientos incorrectos y la inefectividad de los programas de control; por ello, el nivel de resistencias puede representar un parámetro sobre la realización de los tratamientos en una comunidad.

El **objetivo general** fue cuantificar la utilización de los métodos microbiológicos en el diagnóstico de la TB y la frecuencia de aparición de resistencias de *M. tuberculosis*.

Material y métodos: Estudio descriptivo, basado en la revisión de historias clínicas de una cohorte de pacientes de la Atención Especializada del Área de Salud de Salamanca, con tratamiento antituberculoso iniciado entre 1-Enero-2000 y 31-Diciembre-2004. La información obtenida a través de tal revisión se completó con los archivos microbiológicos de los hospitales del área. Los casos de TB fueron seleccionados según criterios de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). La sensibilidad a los antituberculosos se determinó con el método de las proporciones de Canetti.

Resultados: De los 321 pacientes, se analizaron muestras microbiológicas en 309 pacientes (IC 95%: 96,3 $\pm$ 2); en el 57,6% se trataba de muestras de una única localización anatómica, siendo ésta la situación más habitual, que coincidió con la mediana. El tipo de muestra más frecuentemente procesada fue la de esputo, en el 72,6% del total de enfermos. Hubo al menos un tipo de muestra con cultivo positivo en 220 pacientes; en 185 cepas se conocía el resultado del antibiograma. En el 33% de ellas se aislaron bacilos resistentes a alguno de los fármacos; en un 8,1% se halló resistencia a alguno de los de primera línea y en un 1,6%, multirresistencia. Por fármacos, la mayor tasa de resistencia fue para estreptomicina (57/185; 30,8%), seguida de rifampicina (3,8%), isoniazida (3,2%), pirazinamida (2,7%) y etambutol (1,1%). En el 29,2% de los casos en que se conocía el resultado del estudio de sensibilidad se trataba de resistencias primarias (88,5% de cepas resistentes); se corroboraron resistencias secundarias en el 3,8% (11,5% de cepas resistentes). Todas las multirresistencias se dieron en sujetos con tratamiento previo incorrecto.

Conclusiones: La tasa global de resistencias de *M. tuberculosis* en nuestro medio es alta. Por ello, consideramos necesario realizar sistemáticamente antibiograma a todas las cepas, para establecer el tratamiento correcto en cada caso, así como promover estrategias que aseguren el cumplimiento terapéutico en todos los pacientes, para disminuir la frecuencia de aparición de mutantes resistentes a los actuales fármacos antituberculosos.

57

CAMBIO EPIDEMIOLÓGICO DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTOR DE BLEE EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO EN MADRID

S. Perdices, A. Valverde, T.M. Coque, F. Baquero y R. Cantón
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción: En los últimos años, los aislados productores de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) han sufrido

do un aumento espectacular, especialmente asociados a *Escherichia coli*. En este escenario, *Klebsiella pneumoniae* (Kp) continua representando un importante reservorio para dichas enzimas. El objetivo del estudio fue analizar los aislados de Kp productores de BLEE del Hospital Ramón y Cajal recogidos en 2005 y comparar dicha situación con la observada en años anteriores. (Valverde y cols. JAC 2008; 61:64-72).

Métodos: Los aislados de Kp obtenidos en 2005 se estudiaron para determinar la producción de BLEE. Se seleccionó un aislado por paciente para estudios de clonalidad (XbaI-PFGE y grupos filogenéticos) y caracterización de BLEE (IEF, PCR y secuenciación). Las resistencias a antibióticos no beta-lactámicos se determinaron por difusión en disco.

Resultados: Se identificaron un total de 18 Kp productoras de BLEE (2,4% del total de aislados) en 18 pacientes [38,9% (7/18) quirúrgicos; 16,7% (3/18) médicos; 11,1% (2/18) UCI; 33,3% (6/18) extrahospitalarios], con tendencia mantenida al aumento del número de aislados procedentes de pacientes de la comunidad ($p < 0,01$). La distribución de BLEE fue: 33,3% (6/18) grupo CTX-M-1, 16,6% (3/18) TEM y SHV, 11,1% (2/18) CTX-M-14 y 22,2% sin determinar. Es remarcable la presencia de aislados productores de CTX-M-10 y CTX-M-15, siendo ésta la BLEE predominante (4/18). Todos los aislados productores de CTX-M-15 se encuentran en áreas quirúrgicas lo que refuerza el carácter hospitalario de esta enzima asociado a Kp. El análisis poblacional indica la persistencia de clones epidémicos previamente detectados asociados a TEM-4, CTX-M-15 y CTX-M-10. La mayoría de los aislados pertenecen al filogrupo KpI y KpIII se asoció a CTX-M-10. Se ha observado un aumento de resistencia a tobramicina (80%), ac. nalidixico (60%) y sulfamidas (73,3%). Todos los aislados CTX-M-10 fueron sensibles y los productores de CTX-M-15 fueron todos resistentes a tobramicina y kanamicina.

Conclusiones: En nuestra institución, Kp continúa siendo un microorganismo importante en la diseminación y mantenimiento de las BLEE. Es notable el cambio epidemiológico producido en estos aislados, con un aumento de CTX-M-15 desde su primera detección en 2002, encontrándose principalmente en el ámbito hospitalario. Asimismo, el aumento en el número de aislados procedentes de la comunidad sigue representando un claro desafío para el control de las infecciones nosocomiales.

58

PREVALENCIA DE LOS GENES QNRA, QNRB Y QNRS, Y AAC(6)-IB-CR EN *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO AISLADOS DE ALIMENTOS, PORTADORES SANOS, INFECCIONES URINARIAS Y BACTERIEMIAS

I. García¹, J.M. Rodríguez-Martínez¹, C. Velasco¹, M.C. Conejo¹, L. López-Cerero¹, A. Briaies³, L. Martínez-Martínez² y A. Pascual^{1,3}

¹Departamento de Microbiología, Universidad de Sevilla, Sevilla.

²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander. ³Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Se ha descrito la asociación entre la expresión de determinadas beta-lactamasas, especialmente BLEEs, y la resistencia a quinolonas mediada por plásmidos. En los últimos años, se ha observado un aumento en los porcentajes de resistencia a quinolonas y beta-lactámicos en aislamientos de *E. coli* de muestras de orina procedentes de la comunidad y de bacteriemias, así como un aumento significativo de la producción de BLEEs en estas cepas. El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos en cepas de *E. coli* productor de BLEE de procedencia humana o alimentaria.

Material y métodos: El estudio se realizó con 385 cepas de *E. coli* productoras de BLEEs. 55 se aislaron de orina de pacientes

de la comunidad, 63 de muestras cárnicas, 71 de muestras fecales de portadores sanos y 196 de hemocultivos. Para la detección de los genes qnrA, qnrS, qnrB y aac(6)-Ib-cr realizamos una PCR con cebadores específicos (qnrA1: 5'-GGGTATGGA-TATTATTGATAAAG-3', qnrA2: 5'-CTAATCCGGCAGCAC-TATTA-3'; qnrS1: 5'-CAATCATACATATCGGCACC-3', qnrS2: 5'-AGTTCTTGCTGCCAGGCTGC-3'; qnrB1-A: 5'-ATGACGC-CATTACTGTATAA-3', qnrB1-B: 5'-GATCGCAATGTGTGA-AGTTT-3'; Aac(6)-Ib-1: 5'-ATATGCGGATCCAATGAGCA-ACGCAAAAACAAAGTTAG-3'; Aac(6)-Ib-2: 5'-ATATGCGA-ATTCTTAGGCATCACTGCGTGTTCGCTC-3'). Los amplificados fueron visualizados en gel de agarosa y secuenciados.

Resultados: qnrA1 se detectó en dos cepas de *E. coli* bacteriémicas, al igual que qnrS1, siendo la prevalencia de genes qnr en esta colección del 2%. En el resto de colecciones no se detectaron genes qnr. En el caso del gen aac(6)-Ib, éste se detectó en 32 de las 385 cepas evaluadas (8,3%) repartidas del siguiente modo: 5 cepas aisladas en orina de pacientes de la comunidad (9%), 4 cepas aisladas de portadores sanos (5,6%) y 23 cepas de bacteriémias (11,7%). Este gen no se detectó en cepas de origen cárnico. En la mayor parte de las cepas en la que se detectó aac(6)-Ib, la secuenciación mostró que era la variante aac(6)-Ib-cr (73%).

Conclusiones: En las cepas de *E. coli* productor de BLEEs estudiadas, la prevalencia del gen aac(6)-Ib-cr fue mayor que la de los genes qnr. El gen aac(6)-Ib-cr se identificó en cepas de origen humano, pero no en las de origen alimentario. Los genes qnrA y qnrS se detectaron exclusivamente en cepas causantes de bacteriemia.

59

SEROTIPOS, GENES DE VIRULENCIA, GRUPOS FILOGENÉTICOS Y TIPADO MOLECULAR POR PFGE DE AISLADOS CLÍNICOS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORES DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEES) CTX-M14 Y CTX-M-15

M.P.M. Alonso^{1,2}, M.H. Nicolas-Chanoine^{3,4}, M. Blanco¹, G. Dahbi¹, A. Mora¹, J.E. Blanco¹, C. López¹, V. Leflon-Guibout³, B. Puentes¹, A. Herrera¹, M. A. Coira², F. García-Garrote², J.M. Pita² y J. Blanco¹

¹Laboratorio de Referencia de *E. coli*, Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, Lugo. ²Unidad de Microbiología Clínica, Complejo Hospitalario Xeral-Calde, Lugo.

³Service de Microbiologie, Hôpital AP-HP Beaujon, Clichy.

⁴Faculté de Médecine, Université Paris 7, Paris.

Introducción: Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) son enzimas capaces de hidrolizar las cefalosporinas de amplio espectro y los monobactams, pero no a las cefamidas o los carbapenems. En las décadas de los años 80 y 90 del siglo pasado predominaban las BLEEs de los tipo SHV y TEM, pero en la actualidad las más prevalentes son las de la familia CTX-M.

Objetivos: En nuestro hospital hemos observado un aumento importante del número de aislados de *E. coli* productoras de BLEEs y por ello hemos decidido hacer un estudio para conocer el tipo de enzima que producen, sus serotipos y genes de virulencia y sus relaciones filogenéticas y clonales.

Material y métodos: Se estudiaron 119 aislados de *E. coli* productores de BLEEs obtenidos durante un período de 18 meses (2005-2007) de pacientes internos y externos del Complejo Hospitalario Xeral-Calde de Lugo. La mayoría de las cepas procedían de urocultivos (72,3%) o hemocultivos (12,6%). El tipo de enzima producido se determinó por PCR y secuenciación del genoma amplificado. También por PCR se determinaron los grupos filogenéticos (A, B1, B2 y D) y los genes de virulencia (papC, sfa/focDE, afa/draBC, hlyA, cnf1, iucD, neuC). El tipado molecular se realizó por la técnica de electroforesis en campos pulsantes (PFGE) con el enzima XbaI y los perfiles obtenidos se compararon con el programa BioNumerics.

Resultados: Un total de 71 (59,7%) de los 119 aislados estudiados fueron positivos para el enzima CTX-M-14, 24 (20,2%) para CTX-M-15, 11 (9,2%) para SHV-12, 8 (6,7%) para CTX-M-32, y los 5 restantes para CTX-M-1, CTX-M-9, CTX-M-10, CTX-M-14b y SHV-2. Los aislados productores de CTX-M-15 y CTX-M-32 se obtuvieron mucho más frecuentemente de infecciones nosocomiales (83,3% y 62,5%, respectivamente) que los positivos para CTX-M-14 (42,2%) o SHV-12 (27,3%). Los 119 aislados pertenecieron a 32 serogrupos O y 58 diferentes serotipos O:H. El serotipo más común fue el O25:H4 que se encontró en 23 (95,8%) de los 24 aislados CTX-M-15 y en 3 (3,2%) de los 95 aislados productores de otros tipos de BLEEs. Los 24 aislados CTX-M-15 presentaron el mismo patotipo (positivos para los genes iucD y afa/draBC) y se englobaron dentro del grupo filogenético B2 que incluye a los principales serotipos de *E. coli* causantes de infecciones extraintestinales. En contraste, únicamente 7 de los 95 (7,4%) aislados negativos para el enzima CTX-M-15 derivaron de dicho grupo filogenético. En análisis realizado por PFGE demostró la existencia de un cluster con una identidad $\geq 85\%$ formado por 23 cepas del serotipo O25:H4 productoras de CTX-M-15 y pertenecientes al grupo filogenético B2.

Conclusiones: En nuestro hospital predominan los aislados productores de CTX-M-14 y CTX-M-15. Mientras los aislados CTX-M-15 mostraron una estructura clonal los productores de CTX-M-14 presentaron una enorme diversidad genética fruto de la transferencia horizontal de plásmidos entre cepas de distintos serotipos.

60

SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA EN AISLAMIENTOS DE ENTEROPATÓGENOS EN 2006 Y 2007 EN EL ÁREA 5 DEL SERVICIO MURCIANO DE SALUD

E. Aznar y M.L. López

Análisis Clínicos (Microbiología), Hospital Virgen del Castillo.

Introducción y objetivo: Las condiciones del paciente o la gravedad del cuadro pueden hacer necesario el tratamiento antimicrobiano en determinados casos de gastroenteritis bacteriana.

Objetivo: Conocer los agentes etiológicos implicados con mayor frecuencia en nuestro entorno, sus principales características epidemiológicas y sus patrones de sensibilidad a los antibióticos.

Materiales y métodos: Las muestras de heces fueron cultivadas en agar McConkey, agar Salmonella-Shigella, medio selectivo para *Campylobacter* y caldo de selenito.

Para la identificación de *Salmonella* spp. se utilizó agar Kligler y API20E (BioMérieux), para su serogrupado se utilizó aglutinación con partículas de látex (BD). Los aislamientos de *Campylobacter* spp. fueron identificados mediante tinción de Gram y oxidasa. Los demás aislamientos fueron identificados mediante el sistema MicroScan (Dade).

La sensibilidad antibiótica fue determinada mediante disco-difusión siguiendo las recomendaciones de CLSI.

Resultados: Se analizaron 1628 muestras y se obtuvo un resultado positivo en 298 casos (18,3%). Los agentes aislados con mayor frecuencia fueron *Campylobacter* spp. (47,3%) y *Salmonella* spp. (46%).

Distribución por edades: el 55% de aislamientos se produjo en niños de 0 a 6 años. *Campylobacter* spp fue el enteropatógeno más frecuentemente aislado en los grupos de 0 a 2 años (66,9%) y de 0 a 6 años (59,1%).

Distribución estacional: se observaron picos en los meses de verano de 2006 y 2007 y en el invierno de 2007. *Salmonella* spp. mostró claros incrementos en los meses de verano; *Campylobacter* spp. ligeros aumentos en los meses cálidos de ambos años, en enero de 2006 y en diciembre de 2007, pero no en el invierno 2006-2007.

Sensibilidad a los antibióticos: la sensibilidad de *Campylobacter* fue de 97,8% frente a eritromicina y de 9,8% frente a ciprofloxacino. La sensibilidad de *Salmonella* frente a ampicilina, amoxicilina-clavulánico, cotrimoxazol, cloranfenicol, cefotaxima y ciprofloxacino fue, respectivamente, de 81,3%, 96,5%, 93,9%, 87,6%, 100% y 100%.

Conclusión: Al igual que en otros entornos similares al nuestro, los enteropatógenos más comunes son *Campylobacter* spp. y *Salmonella* spp. Sus características epidemiológicas más destacables son la mayor incidencia de *Campylobacter* en niños de 0 a 2 años y la marcada estacionalidad de *Salmonella*.

Eritromicina mantiene una buena actividad frente a *Campylobacter* mientras que las quinolonas muestran elevados niveles de resistencia.

La mayor parte de los antibióticos probados frente a *Salmonella* presentan elevados porcentajes de sensibilidad.

61

DETECCIÓN GENOTÍPICA DE RESISTENCIAS A INHIBIDORES DE NEURAMINIDASA Y ADAMANTANOS EN EL CONTEXTO DE LA VIGILANCIA DE GRIPE

G. Ruiz, I. Casas, F. Pozo, P. Pérez-Breña y Red de Laboratorios de Vigilancia de Gripe en España

Servicio de Virología. Laboratorio de Gripe y Virus Respiratorios, Centro Nacional de Microbiología.

Introducción: El desarrollo y la introducción en la práctica clínica de los inhibidores de la neuraminidasa (INA): zanamivir y oseltamivir, ha incrementado la emergencia de virus resistentes a este tipo de antivirales. En los últimos años también se ha descrito un aumento significativo de las resistencias de los virus gripales A a los adamantanos: amantadina y rimantadina.

Métodos: Se ha diseñado un método genérico mediante PCR secuencial en formato multiplex que incluye una RT-PCR capaz de amplificar los 9 subtipos de neuraminidasas (NA) y una segunda reacción capaz de amplificar y diferenciar los subtipos N1 y N2. La secuenciación posterior del producto amplificado permite la detección de aquellas mutaciones descritas hasta el momento y que confieren resistencia a los INA. Para la detección de resistencias a adamantanos se hicieron modificaciones a unos cebadores universales capaces de amplificar los 8 segmentos genómicos de los Influenzavirus A y se diseñaron otros específicos para la amplificar el segmento que codifica el dominio transmembrana de la proteína M2. Se realizó una optimización de las condiciones de ambos ensayos para conseguir la máxima sensibilidad y especificidad.

Resultados: Se subtipó la neuraminidasa a un total de 89 muestras respiratorias y 70 aislamientos positivos a gripe A. Se analizaron las secuencias de 34 productos de amplificación de NA de virus gripales A procedentes de distintas localizaciones geográficas, pacientes inmunocomprometidos y/o que recibieron tratamiento antiviral. Se encontraron 4 virus gripales procedentes de un mismo paciente trasplantado de médula ósea que presentaban la mutación E119V que confiere resistencia a oseltamivir. La amplificación y secuenciación del segmento transmembrana de la proteína M2 de los virus procedentes del mismo paciente puso de manifiesto la presencia de la mutación V27A que confiere resistencia a los adamantanos. El paciente había sido tratado con ambos antivirales.

Conclusiones: El método diseñado permite la detección de resistencias a INA y adamantanos directamente a partir de muestras clínicas permitiendo obviar el cultivo y la detección de mutaciones que pudieran producirse por adaptación del virus al cultivo. El caso descrito nos alerta de la necesidad de incluir la detección de resistencias a INA y adamantanos en el contexto de la vigilancia virológica de la gripe.

62

TENDENCIA TEMPORAL EN LA INCIDENCIA DE PACIENTES HOSPITALIZADOS CON INFECCIÓN/COLONIZACIÓN POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO AMPLIADO (BLEAS). 2002-2007

J. Paz-Esquete¹, R. Fungueiriño¹, M. Trigo², D. Sande³, P. Álvarez², A. Pallarés², M.A. Pascual², M.V. Pulian², F.J. González-Barcala⁴ y F.L. Vázquez-Vizoso¹

¹Servicio de Medicina Preventiva, Complejo Hospitalario de Pontevedra. ²Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario de Pontevedra. ³Servicio de Medicina Interna, Complejo Hospitalario de Pontevedra. ⁴Servicio de Neumología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago.

Introducción: Las enterobacterias productoras de BLEAS son microorganismos multirresistentes, con incidencia creciente como origen de infecciones tanto nosocomiales como comunitarias. Junto con el *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina son los microorganismos multirresistentes más frecuentes en nuestro medio.

Objetivo: Determinar las tasas de incidencia en pacientes con infección/colonización por estos microorganismos en el Complejo Hospitalario de Pontevedra (CHOP), así como la tendencia temporal en el período 2002-2007.

Material y métodos: Estudio prospectivo realizado entre el 1/Enero/2002 y el 31/Diciembre/2007. Se estudiaron los casos de pacientes infectados/colonizados por enterobacterias productoras de BLEAS detectados por el Sistema de Alerta Epidemiológica de Infección del CHOP.

Resultados: Durante el período de estudio se produjeron en el CHOP 145915 ingresos. Se identificaron 414 episodios de pacientes infectados/colonizados (342 *Escherichia coli* y 72 *Klebsiella pneumoniae*), lo que supone una tasa global en el período de 2,84 episodios/1000 ingresos (2,34/1000 de *E. coli* BLEAs, 0,50/1000 de *K. pneumoniae* BLEAs).

Tabla 1: Evolución anual en la tasa de incidencia de pacientes infectados/colonizados por microorganismos productores de BLEAs (casos/1000 ingresos). Período 2002-2007

Año	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Global productores de BLEAs
2002	0,61	0,22	0,83
2003	2,47	0,43	2,90
2004	2,63	0,62	3,25
2005	2,35	0,57	2,92
2006	2,64	0,35	2,99
2007	3,20	0,76	3,96

Al realizar el análisis de tendencias año a año, resultó estadísticamente significativo, tanto en el conjunto de microorganismos productores de BLEAs ($p < 0,001$), como, por separado, los *E. coli* BLEAs ($p < 0,001$) y las *K. pneumoniae* BLEAs ($p = 0,043$). No se observaron diferencias en la tendencia en la proporción *E. coli*/*K. pneumoniae* ($p = 0,762$).

Conclusiones: La evolución en la incidencia de nuevos casos es creciente, lo que puede ser debido tanto a una cada vez mejor detección como a un incremento real en la presencia de estos microorganismos en nuestro medio. Si bien disponemos de mecanismos para limitar su transmisión nosocomial (aislamiento de contacto, controles microbiológicos, correcta política antibiótica y educación sanitaria del personal), resulta más complejo controlar su expansión en la comunidad.

63

ESTUDIO DE FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS AL AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES EN PACIENTES HOSPITALIZADOS EN LA CLÍNICA UNIVERSITARIA DE NAVARRA

M. Íñigo¹, M. Giráldez², F. Guillén³, I. Aquerreta² y J. Leiva¹

¹Servicio de Microbiología, ²Servicio de Farmacia, ³Unidad de Medicina Preventiva, Clínica Universitaria de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción y objetivos: La prevalencia de infecciones nosocomiales causadas por microorganismos multirresistentes se encuentra en aumento a nivel mundial, repercutiendo directamente tanto en las estrategias de control de la infección como en la orientación del tratamiento empírico. El objetivo de este estudio es analizar los factores asociados a la aparición de estos microorganismos como causa de infección nosocomial en nuestro centro.

Material y métodos: En el periodo comprendido entre junio y diciembre de 2007 se procedió a realizar un estudio retrospectivo seleccionando pacientes con infecciones nosocomiales causadas por microorganismos multirresistentes, y se incluyó un control por cada caso en función del microorganismo y tipo de muestra. Las variables estudiadas fueron días de ingreso previos al primer cultivo positivo objeto de estudio y la presencia o no de ventilación mecánica invasiva, cirugía, catéter venoso central, sonda vesical, sonda nasogástrica, nutrición parenteral, drenajes, empleo de corticoides e inmunosupresores, quimioterapia, radioterapia así como antibioterapia previa recibida. Se estudiaron qué antibióticos habían recibido previamente estos pacientes. La asociación entre estos factores y la aparición de microorganismos multirresistentes se estudió mediante regresión logística uni y multivariante.

Resultados: Se estudiaron un total de 40 casos (13 pacientes con aislamiento de *E. coli* BLEE, 6 con *P. aeruginosa* multirresistente y 21 con *S. aureus* resistente a meticilina) y 40 controles. En el análisis univariante resultaron ser predictores positivos de aparición de microorganismos multirresistentes la presencia de ventilación mecánica (razón de odds 2,83; IC 95% 1,00-7,98), sonda vesical (4,33; 1,69-11,07), nutrición parenteral (4,33; 1,27-14,77) y resultaron estadísticamente significativas las variables meses de ingreso (2,126; 1,18-3,82), sonda vesical (3,055; 1,08-8,60) y antibioterapia previa (3,37; 1,10-10,29). En cuanto a los antibióticos empleados, piperacilina/tazobactam y meropenem resultaron ser factores predictores positivos de riesgo.

Discusión y conclusiones: Los meses de ingreso previos, la portación de sonda vesical y la antibioterapia previa se establecen como los principales factores de riesgo para el desarrollo de infecciones nosocomiales por microorganismos multirresistentes. Por cada mes de ingreso se duplica el riesgo y se triplica en el caso de ser portador de sonda vesical o haber recibido antibioterapia previa.

64

EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR Y SENSIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE ACINETOBACTER BAUMANNII MULTIRRESISTENTES (AB-MDR) PROCEDENTES DE UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

C. Salvador, M.J. del Amor, M.J. Nuñez, J.L. Hernández-Cardona, M.C. Martínez-Toldos, G. Yagüe y M. Segovia
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Objetivo: Conocer la epidemiología molecular de *Acinetobacter baumannii* aislados en la UCI y determinar la actividad "in vitro" de diferentes antibióticos incluyendo tigeciclina.

Material y métodos: Se aislaron un total de 98 aislamientos clínicos de *A.baumannii* procedentes de 45 pacientes ingresados en UCI desde febrero de 2005 hasta mayo de 2007. Se utilizó una cepa por paciente para realizar el estudio. La identificación de especies y la sensibilidad antibiótica de los aislamientos se realizó mediante Vitek2 (bioMérieux). La sensibilidad a ampicilina-sulbactam, colistina y doxiciclina se realizó por el método de disco-difusión y la actividad de tigeciclina mediante E-test (AB-Biodisk). La tipificación molecular de los aislados procedentes de diferentes pacientes se realizó mediante RFLP-PFGE tras digestión enzimática con ApaI.

Resultados: El 33,6% de los aislamientos provenían de muestras respiratorias, 28,5% de hemocultivos, 18,3% de exudados de heridas, 11,2% de catéteres, 6,1% de líquidos y 2% de urocultivos. Excepto dos cepas, todas las demás presentaron un perfil de multiresistencia siendo resistentes a la mayoría de antibióticos excepto a colistina (100% de cepas sensibles) y ampicilina-sulbactam (93,4% cepas sensibles). El 71% fueron resistentes a carbapenems y, según los criterios de la FDA, un 21% fueron resistentes a tigeciclina. En el periodo estudiado se identificaron 6 clones (A-F) con uno predominante, resistente a carbapenems que aparece en Octubre de 2006 y que englobó a la mitad de los aislamientos (51%). Los clones A (sensible a carbapenémicos, Octubre 2005-Enero 2006) y B (resistente a carbapenémicos, Mayo 2005-Noviembre 2006) incluyeron al 18% de aislamientos cada uno de ellos.

Conclusiones: En el periodo estudiado existieron, de forma secuencial, diferentes clones de AB-MDR apareciendo uno de ellos como el mayoritario. La resistencia a antibióticos fue muy elevada siendo un 71% resistentes a carbapenémicos considerados el tratamiento de elección, lo que lleva a considerar como tratamiento empírico en infecciones producidas por este microorganismo a otros fármacos alternativos como sulbactam, colistina y tigeciclina.

65

APARICIÓN DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* RESISTENTE A COLISTINA EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

M. Montero¹, JP. Horcajada¹, L. Sorlí¹, M. Salvado², C. Segura², F. Alvarez-Lerma³, S. Grau⁴ y H. Knobel¹

¹Servicio de Medicina interna y Enfermedades Infecciosas,

²Servicio de microbiología, Laboratori de Referencia de

Catalunya, ³Servicio de Medicina intensiva, ⁴Servicio de Farmacia, Hospital del Mar.

Introducción: El diagnóstico de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente es un problema creciente que ha obligado al resurgimiento de viejos antibióticos y la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas. Objetivo: analizar la incidencia de *P. aeruginosa* resistente a colistina (PARCOL) en un hospital universitario y describir sus características clínicas y epidemiológicas. Evaluar la relación entre el consumo anual de colistina en dosis diaria definida (DDD/100 estancias-día) y la aparición de PARCOL.

Metodos: Estudio retrospectivo de los pacientes que presentaron infección-colonización por PARCOL ingresados durante 2001-2007. Se definió PARCOL como la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* resistente a colistina independientemente de la resistencia a otros antimicrobianos. Para confirmar la resistencia a colistina se empleó la determinación de la CIM por el método de microdilución en caldo MS-CAN. Se aplicó un análisis de regresión lineal para relacionar el consumo anual de colistina en DDD/100 estancias-día con la proporción de PARCOL del año posterior.

Resultados: Se incluyeron 10 pacientes. Dos pacientes en el año 2005, 2 en el 2006 y 6 en el año 2007 sin detectar ningún caso entre 2001 y 2004. Las tasas de PARCOL respecto al total de *Pseudomonas aeruginosa* fueron de 0,34% en 2005, 0,35 % en 2006 y 0,97% en 2007. La DDD por 100 días de es-

tancia de colistina en el centro fue: 2002: 0,04; 2003: 0,07; 2004: 0,05; 2005: 0,10; 2006: 0,08; 2007: 0,12. El análisis de regresión lineal entre las DDD/100 estancias-día anuales de colistina y la proporción de PARCOL resultó significativo (R^2 : 0,71; p: 0,02).

Las características demográficas fueron: edad < 68 años 60%, hombres: 70%. Antecedentes patológicos: Diabetes Mellitus 30%, Insuficiencia renal crónica 20%, hepatopatía crónica 30% y EPOC 10%. En 7 casos se consideró infección y en 3 colonización. Según el tipo de muestra se aisló 8 casos en orina, 1 en BAS y 1 en esputo. En todos los casos se aislaron previamente *P. aeruginosa* sensible sólo a colistina y amikacina y la detección de la PARCOL fue tras 30 días de estancia (mediana de estancia 91,5 días). Ingreso en UCI 70 %. En 9 pacientes existía la administración previa de colistina, en 6 aminoglucósidos, en 10 β lactámicos y en 8 carbapenémicos. De los 7 pacientes infectados, falleció uno, siendo la evolución favorable en el resto.

Conclusiones: La incidencia de PARCOL es de momento baja, sin embargo, tiene tendencia a aumentar en el último año y se relaciona con el aumento en el consumo de colistina.

66

TIPIFICACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILINO RESISTENTE (SAMR) MEDIANTE ELECTROFORESIS DE CAMPO PULSADO (PFGE) Y PATRONES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

G. Medina¹, N. Bustamante¹, C. Otth¹, L. Otth¹, H. Fernandez¹, A. Zaror², M. Arce², C. Cruz², V. Lizama² y M. Wilson¹

¹Instituto de Microbiología Clínica. ²Laboratorio Clínico Central, Sección de Microbiología. ¹Universidad Austral de Chile.

²Hospital Regional de Valdivia, Chile.

Introducción/objetivo: Existen diferentes métodos de tipificación microbiana dirigidos al análisis epidemiológico de *S. aureus* meticilino resistente (SAMR). Nuestro objetivo consistió en establecer el genotipo (pulsotipo), mediante electroforesis de campo pulsado (PFGE), de cepas SAMR y relacionarlos con sus patrones de resistencia antimicrobiana obtenidos mediante la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM).

Material y método: El estudio incluyó 36 cepas de SAMR, no relacionadas a brotes epidemiológicos, aisladas de pacientes hospitalizados en el Hospital Regional de Valdivia, Chile.

La CIM se determinó usando el método de dilución en agar descrito por Erricson y Sherris frente a ocho antimicrobianos: Penicilina (P), Ampicilina (A), Cefradina (C), Lincomicina (L), Gentamicina (G), Eritromicina (E), Ciprofloxacino (Ci) y Vancomicina (V). Los criterios para determinar la susceptibilidad de las cepas son los descritos por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), formerly NCCLS.

Los pulsotipos se determinaron mediante PFGE, utilizando la enzima Sma I para la digestión enzimática de cepas SAMR y la enzima Xba I para la digestión de la cepa control S. Branderup. Los patrones de corte se analizaron mediante el software Bionumerics, aplicando un índice de tolerancia del 1,8%.

Resultados: Las cepas fueron clasificadas en 15 pulsotipos, asignándole a cada uno una letra (A – O). Predominaron los pulsotipos E y I con 8 cepas cada uno, las cuales presentaron un porcentaje de similitud del 85,7% respectivamente.

Mediante CIM las cepas fueron clasificadas en cuatro patrones de resistencia. El patrón 1 (P-A-C-G-Ci-L-E), agrupó 33 cepas, las cuales fueron tipificadas en los pulsotipos A-C-D-F-G-H-I-J-K-L-M-O. Los patrones 2 (P-A-C-L-E), 3 (P-A-C-G-Ci-E) y 4 (P-A-C-Ci-L-E) incluyeron solo una cepa cada uno, las cuales corresponden a los pulsotipos B, E y N respectivamente. La totalidad de las cepas fue sensible a Vancomicina.

Conclusiones: La detección de 15 pulsotipos en contraste con 4 patrones de resistencia, se debe fundamentalmente a que

PFGE es la técnica genotípica de elección para el análisis de SAMR, debido principalmente a su elevado poder de discriminación. Sin embargo, se identificaron dos patrones únicos de resistencia (2 y 4), los que coinciden con dos pulsotipos únicos (B y N), pese a que la determinación de CIM presenta un menor poder de discriminación por ser una técnica fenotípica.