

Sesión 9

Epidemiología de la resistencia a antimicrobianos. Estudios de vigilancia de la resistencia (II)

123

INTEGRONES DE CLASE 1 EN AISLADOS DE *Salmonella enterica* DE SEROTIPOS POCO USUALES

M.M.O Pérez Moreno¹, X. Tejedor Ganduxé¹, J. Ruiz Blázquez²,
M.I. Llovet Lombarte¹, A.M. Jardí Baiges¹, M.P. Cid Ventura¹,
J. Zaragoza López¹ y J. Vila Estapé³

¹Servicio de Análisis Clínicos. Hospital de Tortosa Verge de la
Cinta. Tarragona, ²Centro de Salud Internacional, ³Servicio de
Microbiología. Hospital Clínic. Barcelona.

Objetivo: Conocer la frecuencia de integrones de clase 1 entre aislados de *S. enterica* de serotipos distintos a *Enteritidis* y *Typhimurium* de nuestra región sanitaria.

Material y métodos: Se estudió la sensibilidad antibiótica de las 67 cepas de *S. enterica* no *Enteritidis* ni *Typhimurium* aisladas en nuestro laboratorio entre enero y octubre de 2001 y entre marzo de 2004 y diciembre de 2005. En todos los aislados con resistencia a alguno de los antibióticos ensa-

yados se investigó la presencia de integrones de clase 1 mediante PCR y los iniciadores 5'CS- 3'CS. Los genes de resistencia insertados en estos integrones se identificaron mediante una segunda PCR empleando los productos generados por la PCR anterior e iniciadores específicos para *aadA1*, *aadA2*, *dfrA1*, *tem-1*, *oxa-1* y *pse-1* o por secuenciación.

Resultados: 1) Durante el periodo de estudio se recuperaron en nuestro laboratorio 67 aislados de *S. enterica* no *Enteritidis* ni *Typhimurium* de los que 50 fueron resistentes a algún antibiótico y 41 a más de dos grupos de antibióticos(MR) [18 S. Hadar MR, 5 S. Rissen (2 MR), 4 S. Virchow (2 MR), 3 S. Brandenburg MR, 3 S. Subespecie I [9,12:lv:-] MR, 2 S. Blockley MR, 2 S. Panama MR, 1 S. Bredeney MR, 1 S. Give MR, 1 S. Grumpensis MR, 1 S. Kapemba MR, 1 S. Livingstone, 1 S. Mbandaka MR, 1 S. Muenchen MR, 1 S. Newport MR, 1 S. Paratyphi A, 1 S. Tennessee, 1 S. Sub. I [9,12:-:-] MR, 1 S. Sub. I [4,12:i:-] y 1 S. Sub. I [4,12:-:-] MR]. 2) Los antibióticos con mayores tasas de resistencia fueron tetraciclina (44/67), estreptomicina (STR) (39/67), amoxicilina (34/67), ácido nalidíxico (28/67), sulfamidas (18/67) y cotrimoxazol (14/67). 3) Se detectó la presencia de integrones en 14 aislados, todos ellos MR. 4) Integrones - tamaño región variable y genes insertados- identificados: 1600 pb (*dfrA1-aadA1*) (1 S. Brandenburg, 1 S. Panama, 3 S. Sub. I [9,12:lv:-] y 1 S. Sub. I [9,12:-:-]); 1600 pb (*dfrA1-aadA2*) 1 S. Panama; 1500 pb (*dfrA17-aadA5*) (1 S. Brandenburg y 1 S. Bredeney); 1500 (*dfrA17-aadA5*) + 1700 pb (*aadA2-2?*) 1 S. Grumpensis; 900 pb (*aadA1*) 1 S. Kapemba que producía una β-lactamasa de espectro extendido(βLEE); 1900 pb (*dfrA12-orf-aadA2*) 1 S. Rissen; 1600 pb (*dfrA16-aadA2*) 1 S. Virchow productor de una βLEE de tipo CTX-M; 1000 (*aadA2*) + 1200 pb (*pse-1*) 1 S. Sub.I [4,12:-:-].

Conclusiones: 1) La resistencia mediada por integrones está relativamente extendida en serotipos de *S. enterica* poco usuales, pero no en algunos habitualmente multirresistentes como Hadar. 2) Aislados de serotipos diferentes pueden presentar un mismo tipo de integrones mientras que los de un mismo serotipo pueden albergar integrones diferentes. (c) De entre los genes vehiculados por integrones los más prevalentes fueron los que codifican resistencia a STR y trimetropim.

124

APLICACIÓN DE DIVERSOS CRITERIOS DE ELIMINACIÓN DE DUPLICADOS EN EL ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA

E. Sirvent, J.C. Rodríguez, M. Ruiz, J.M. López-Lozano*, E. Pastor, J.M. Álvarez y G. Royo

*S. Microbiología. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. *S. Medicina Preventiva. Hospital Vega Baja. Orihuela. Alicante.*

Objetivo: Analizar el efecto de la aplicación de varios criterios de eliminación de duplicados en el estudio de la sensibilidad antibiótica de *P. aeruginosa* asociadas a infección nosocomial.

Material y métodos: *Microorganismos estudiados:* Todos los aislados clínicos de *P. aeruginosa* asociados a infección nosocomial aislados en el HGUE durante 21 meses (256 microorganismos). **Antibióticos:** Ceftazidima, piperacilina/tazobactam, imipenem, meropenem, cefepima, aztreonam, tobramicina, amikacina, ciprofloxacina y ticarcilina. **Sensibilidad antibiótica:** Se determinó mediante microdilución (Wider, Soria Melguizo) aplicando las normas CLSI. Cuando se detectaban cambios de susceptibilidad entre cepas del mismo paciente, se confirmaban mediante dilución en agar y/o E-test (criterios CLSI). **Criterios aplicados para eliminar duplicados:** 1. *Criterios temporales:* En función del momento del aislamiento, se eliminaron los aislados del mismo paciente con un intervalo menor o igual a 7, 15, 21 y 30 días, aplicando la aplicación informática de sistema Viresist. 2. *Criterio de variación de la sensibilidad antibiótica:* Mediante el programa informático del sistema Wider, se eliminaron los aislados del mismo paciente que presentaban el mismo

antibiograma, independientemente del momento del aislamiento. 3. *Criterio de referencia:* El primer aislado de cada paciente, criterio recomendado por CLSI.

Resultados Al aplicar el criterio de referencia, disminuye el porcentaje de cepas resistentes respecto al obtenido considerando todas las cepas aisladas (sin eliminación de duplicados). Cuando comparamos el criterio de referencia con los criterios temporales, observamos que éstos proporcionan un porcentaje superior de resistencia (el incremento máximo es de un 5,9% para imipenem). La aplicación del criterio de susceptibilidad antibiótica aumenta también los porcentajes de resistencia. El incremento va desde el 7,2% de media para los betalactámicos, el 6% para ciprofloxacino y el 0,7% para aminoglucósidos.

Conclusiones: Para poder comparar datos de diferentes estudios, es imprescindible aplicar e indicar el sistema de eliminación de duplicados que se ha utilizado. Por otra parte, debido a que este patógeno desarrolla resistencias durante el tratamiento de algunos pacientes, debe cuestionarse el criterio CLSI, ya que los datos son más exactos si se aplica el criterio de la susceptibilidad antibiótica.

125

VIGILANCIA DE LAS RESISTENCIAS BACTERIANAS EN PEDIATRÍA Y SU RELACIÓN CON EL USO DE ANTIMICROBIANOS EN LA COMUNIDAD VALENCIANA A TRAVÉS DEL PROYECTO VIRESIST (WWW.VIRESIST.ORG)

J.R. Bretón Martínez¹, R. Hernández^{1,10}, J.M. Nogueira^{2,10}, C. Gimeno^{3,10}, R. Borrás^{3,10}, J. Alberola², J. Brines^{4,10}, G. Royo⁵, F. Pardo⁶, I.M. Gould⁷, F. Goberna⁸ y J.M. López-Lozano⁹

Servicios de ¹Pediatría y ²Microbiología. H. Universitario Dr. Peset, Valencia; Servicios de ³Microbiología y ⁴Pediatría H. Clínico Universitario, Valencia; Servicio de ⁵Microbiología, H. General de Elche (Alicante); Servicio de ⁶Microbiología, Hospital General de Castellón; ⁷Aberdeen Royal Infirmary, Escocia (U.K.); Servicio de ⁸Pediatría y ⁹Unidad de Investigación, Hospital de la Vega Baja, Orihuela (Alicante); ¹⁰Universidad de Valencia.

Antecedentes y objetivos: El Proyecto ViResiST (www.viresist.org) es un sistema de vigilancia de las resistencias bacterianas y de uso de antimicrobianos que utiliza técnicas de análisis de series temporales. Los objetivos de esta comunicación son: 1) el estudio de las resistencias bacterianas en población pediátrica de los hospitales Dr. Peset (Valencia), H. de la Vega Baja (Orihuela), H. Clínico Universitario (Valencia), H. General de Elche, H. General de Castellón, 2) analizar la relación entre resistencias y uso de antimicrobianos y 3) comparar nuestros resultados con el Aberdeen Royal Infirmary (Escocia).

Métodos: Con los datos del Proyecto ViResiST se calcularon los porcentajes de resistencia o sensibilidad intermedia de los patógenos bacterianos a los antimicrobianos de interés. Se analizó la evolución temporal del consumo de antimicrobianos. Se estudiaron con modelación ARIMA 902 combinaciones de series temporales de resistencia y uso de antimicrobianos para investigar una relación matemática entre ambas.

Resultados: Los porcentajes más relevantes de resistencia o sensibilidad intermedia fueron: *S. pyogenes* a eritromicina 12-30%, *S. pneumoniae* a penicilina 45-60%, a eritromicina 40- 60%; *S. aureus* a meticilina < 4%, a eritromicina 35%, a clindamicina < 10%; *E. coli* a amoxicilina 65-70%, a amoxicilina-clavulánico (AMC) 10-20%, a nitrofurantoína y fosfomicina < 5%, a cotrimoxazol 30%; *Salmonella spp.* a amoxicilina 50%, a AMC 10-20%. En la Comunidad Valenciana los antibióticos más utilizados fueron AMC (23%), penicilinas de amplio espectro (22%) y macrólidos (20%). En Aberdeen el consumo de antimicrobianos y las resistencias fueron menores: *S. pyogenes* a eritromicina 4%, *S. pneumoniae* a penicilina 2%, a eritromicina 5%; *S. aureus* a meticilina 0,3%, a eritromicina 15%; bacilos coliformes a amoxicilina 60%, a AMC 8%, a trimetoprim 24%; *Salmonella spp.* a amoxicilina 19%, a AMC 0,2%. De las 902 combinaciones estudiadas se encontró relación significativa entre resistencia y uso de an-

timicrobianos en 60 (6,7%). Hubo un descenso en el uso de antimicrobianos y de las resistencias en todos los ámbitos.

Conclusiones: Los datos del Proyecto ViResiST permiten disponer de información local y actualizada de las resistencias bacterianas en Pediatría y del uso de antimicrobianos. Esta información permite orientar la terapia empírica y mejorar la política antibiótica. El menor uso de antimicrobianos en Aberdeen se asoció a menores resistencias bacterianas.

126

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE: TASA DE COLONIZACIÓN Y SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA EN EMBARAZADAS

J. Colomina, M. Vayá, J.E. Peiró, T. Magraner y M.A. Cotaina
Servicio de Microbiología, Hospital de La Ribera, Alzira, Valencia.

Introducción y objetivo: La infección por *Streptococcus agalactiae* (STAG) representa, en ausencia de medidas de prevención, la causa más frecuente de enfermedad bacteriana perinatal de transmisión vertical en Occidente. Los objetivos del presente trabajo han sido conocer: 1) la evolución de la tasa de colonización de STAG en muestras genitales de embarazadas durante un periodo de cinco años y 2) los porcentajes de resistencia bacteriana frente a diversos antimicrobianos.

Material y métodos: De 2001 a 2005 se estudiaron 8888 gestantes pertenecientes al Departamento de Salud nº 11 de la Comunidad Valenciana (censo: 236.230 habitantes). Entre las semanas 35-37 de gestación se recogieron exudados rectal y vaginal de cada paciente, y se analizaron para detección de STAG mediante cultivo en el medio cromogénico de Granada. Las placas se incubaron en aerobiosis a 35°C con 5% de CO₂ durante 48 h, y la identificación de las cepas se realizó según indicaciones del fabricante. Para el estudio de sensibilidad antibiótica, se seleccionaron aleatoriamente las 100 primeras cepas detectadas durante el año 2005. Los halos de inhibición se determinaron mediante el método de disco-difusión en placas de Mueller-Hinton con sangre según criterios NCCLS. Los antibióticos analizados fueron: penicilina (PEN), ampicilina (AMP), cefotaxima (CTX), eritromicina (ERI), clindamicina (CLIN), ciprofloxacino (CIP), vancomicina (VAN), linezolid (LID) y telitromicina (TEL).

Resultados: Los números de gestantes estudiadas de 2001 a 2005 fueron: 1214, 1716, 1887, 1986 y 2085 respectivamente. Los porcentajes de portadoras de STAG fueron los siguientes: 12,7%, 12,8%, 13,3%, 12,8% y 13,2% respectivamente. El estudio de sensibilidad mostró las siguientes tasas de resistencia: 0% para PEN, AMP, CTX, VAN, LID y TEL, 1% para CIP, 21% para ERI y 24% para CLIN. Se detectó un 21% de cepas con fenotipo MLS.

Conclusiones: La tasa media global de gestantes portadoras de STAB durante un periodo de 5 años ha sido del 13% (con una mínima variabilidad interanual), y es similar a la detectada en otros estudios de ámbito nacional. Se ha detectado un elevado porcentaje (21%) de cepas resistentes a eritromicina, lo que obliga a practicar estudio de sensibilidad a aquellos STAG que colonizan a embarazadas alérgicas a beta-lactámicos.

127

EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A AMOXICILINA/CLAVULÁNICO Y DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA IMPLICADOS EN AISLADOS DE *ESCHERICHIA COLI* DE LES TERRES DE L'EBRE (2002-2005)

M.M.O. Pérez Moreno, M.I. Llovet Lombarte, M.J. Centelles Serrano, M. Pérez Moreno, A.M. Jardí Baiges, M.P. Cid Ventura, J.I. Buj González y J. Zaragoza López
Servicio de Análisis Clínicos. Hospital de Tortosa Verge de la Cinta (HTVC). Tortosa. Tarragona.

Objetivo: Analizar la evolución durante los años 2002-2005 de la resistencia a amoxicilina-clavulánico (A/C) y de los me-

canismos de resistencia presuntamente implicados en aislados de *Escherichia coli* procedentes de la región sanitaria Terres de l'Ebre.

Material y métodos: Se determinó la CMI a amoxicilina, A/C, ticarcilina, cefazolina, cefoxitina, cefuroxima (CFX), cefepime (CFP), cefotaxima, ceftazidima, cefotaxima-clavulánico y ceftazidima-clavulánico de los 5969 aislados de *E. coli* (1080 procedentes de pacientes ingresados en el HTVC, 797 de pacientes ingresados en un socio sanitario (SS) y 4092 de pacientes ambulatorios) recuperados en nuestro laboratorio entre 2002 y 2005. Los aislados intermedios o resistentes a A/C fueron clasificados, en función de su fenotipo de resistencia a β-lactámicos, como hiperproductores de penicilinas clásicas (HP), productores de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE), hiperproductores de AMPc o productores de cefamicinas (HC), productores de β-lactamasas TEM resistentes a inhibidores (IRT), productores de OXA o mutantes con disminución de permeabilidad (DP). Los fenotipos IRT y OXA se diferenciaron de acuerdo a la CMI a CFP y CFX.

Resultados: 1) La resistencia global a A/C fue del 7,5% (5,6% aislados intermedios y 1,9% resistentes). 2) El porcentaje de resistencia para las cepas procedentes de pacientes ingresados en el HTVC, en SS y de pacientes ambulatorios fue del 8,9, 10,3 y 6,7% respectivamente (HTVC y SS vs. ambulatorios p < 0,05). 3) Los porcentajes de resistencia a A/C fueron del 7,9% en 2002, 8,2% en 2003, 5,8% en 2004 y 8,4% en 2005 (2002 vs. 2005 p = 0,31). 4) El 40,3% de los aislados con algún grado de resistencia a A/C presentó fenotipo HP, el 33,5% HC, el 18,8% IRT, el 3,5% BLEE, el 2,2% OXA y el 1,6% DP. 5) La frecuencia de los diferentes fenotipos de resistencia en 2002, 2003, 2004 y 2005 fue: HP 39,2, 37,5, 31,4 y 51,8%; HC 40,8, 35,1, 36 y 21,4%; IRT 16,8, 14,8, 29,1 y 17,6%; BLEE 2,4, 2,3, 3,5 y 6,25% (2002 vs. 2005 p < 0,001); OXA 0,8, 7, 0 y 0%; DP 0%, 3,1, 0 y 2,7%. 6) La prevalencia de aislados con fenotipo IRT durante el periodo estudiado fue del 1,4%.

Conclusiones: La resistencia a A/C se ha mantenido estable entre 2002 y 2005. La resistencia a A/C fue significativamente más frecuente en aislados de pacientes hospitalizados que en aquellos de pacientes ambulatorios. Los mecanismos más frecuentes de resistencia a A/C en *E. coli* son la hiperproducción de penicilinas clásicas, la hiperproducción de AMPc y la producción de enzimas compatibles con IRT, cuya prevalencia continúa siendo baja. La hiperproducción de BLEE es el mecanismo de resistencia que ha experimentado mayor incremento entre 2002 y 2005.

128

UTILIDAD DEL E-TEST MBL PARA LA DETECCIÓN DE METALO-BETA-LACTAMASAS EN AISLADOS CLÍNICOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* RESISTENTES A CARBAPENEMAS

E. Cercenado, M. Marín, M.J. Goyanes, R. Insa y E. Bouza
Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario "Gregorio Marañón". Madrid.

Objetivo: La resistencia de *P. aeruginosa* a carbapenemas mediada por metalo-beta-lactamasas (MBL) de los tipos IMP y VIM está aumentando en varios países, aunque es muy infrecuente en España. Realizamos un estudio prospectivo para determinar la incidencia de MBL en *P. aeruginosa* y evaluar la utilidad del E-test MBL para su detección.

Material y métodos: Durante 2005, en todos los aislados de *P. aeruginosa* recogidos en nuestro hospital con resistencia a carbapenemas, a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y a ureido-penicilinas, y sensibles a aztreonam (fenotipo MBL) se realizó la detección de MBL mediante el método E-test MBL (determinación de la CMI de imipenem con y sin EDTA). En los aislados en que el test fue positivo (>3 diluciones de diferencia con y sin EDTA) se cuantificó espectrofotométricamente la actividad hidrolítica de imipenem y se realizó PCR para la detección de MBL de tipo IMP y VIM, seguida de secuenciación.

Resultados: El 30% (363) de los aislados de *P. aeruginosa* fueron resistentes a carbapenemas. De ellos, 44 (12%) presentaron el fenotipo MBL. En estos, la prueba de E-test MBL resultó positiva en 8, pero en 6 de ellos no se detectó actividad hidrolítica de imipenem (falsos positivos de E-test MBL). En dos aislados (uno de sangre y otro de un bronco-aspirado procedentes de un paciente adulto y un niño, respectivamente) se detectó por PCR y secuenciación la presencia de VIM-2.

Conclusiones: El E-test MBL es un método de fácil realización y rápido para detectar la presencia de MBL en *P. aeruginosa* en los laboratorios clínicos, pero los resultados positivos se deben confirmar mediante PCR y secuenciación. Es la primera vez que se detectan en nuestro hospital aislados de *P. aeruginosa* productores de MBL (VIM-2). Aunque la prevalencia de estas cepas es baja (0,5% y 0,16% de las cepas resistentes a carbapenemas y totales, respectivamente) es necesario realizar una vigilancia activa para detectar los aislados de *P. aeruginosa* con este emergente mecanismo de resistencia.

129

BROTE DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORA DE UNA CEFAMICINASA PLASMÍDICA DE TIPO AmpC EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS NEONATAL

M.N. Larrosa¹, S. Lavilla¹, R.M. Bartolomé¹, M. Sabate¹, J.J. González-López¹, S. Salcedo², M. Campins³, M.C. Figueiras⁴ y G. Prats¹

¹Servicio de Microbiología, ²Servicio de Neonatología, ³Servicio de Medicina Preventiva, ⁴Servicio de Enfermedades Infecciosas Pediátricas. Hospital Vall d'Hebron. Universitat Autónoma de Barcelona.

Objetivo: Estudiar el carácter clonal y el mecanismo de resistencia a los beta-lactámicos de una serie de cepas de *K. pneumoniae* (Kp) resistentes a cefoxitina, cefalosporinas de tercera generación e inhibidores de las β-lactamasas (BL) aisladas en la UCI de Neonatos (UCIN) del H. Vall d'Hebron de Barcelona.

Material y métodos: El estudio de colonización intestinal se realizó mediante la siembra de frotis rectales en agar MacConkey suplementado con 1 µg/ml de cefotaxima. Los aislados de Kp se identificaron mediante pruebas metabólicas convencionales. El estudio de sensibilidad a los antimicrobianos se llevó a cabo mediante técnica de disco-difusión en agar Mueller-Hinton realizándose screening fenotípico de la presencia de BL de tipo AmpC mediante test de sinergia con discos de cefoxitina, ceftazidima y de oxacilina de 500 µg. La caracterización de la BL responsable se realizó mediante técnica de isoelectroforesis, PCR-múltiple con cebadores específicos de cefamicinasas plasmídicas y secuenciación posterior del fragmento amplificado. La relación clonal entre los aislados se estudió mediante técnica de ERIC-PCR.

Resultados: Entre el 8 y el 13 de enero se detectaron en la UCIN tres casos de sepsis (dos de origen respiratorio y una de origen desconocido) por Kp con un mismo patrón fenotípico de resistencia que sugería la existencia de una cefamicinasa plasmídica. Durante los dos meses siguientes se realizó un estudio de colonización intestinal de 90 niños detectándose 12 pacientes colonizados; (2 en enero, 2 en febrero y 8 en marzo) que no llegaron a desarrollar ningún proceso patológico por este microorganismo. La caracterización molecular de la BL puso de manifiesto la presencia de la cefamicinasa plasmídica CMY-2. La ERIC-PCR demostró que todas las cepas aisladas presentaban el mismo patrón y constituyan un único clon bacteriano.

Conclusiones: 1) Destacar el amplio perfil de resistencia que confieren estas BL y 2) señalar que, a pesar de que la colonización intestinal no implica necesariamente evolución hacia enfermedad, su detección precoz y la adopción rápida de medidas de aislamiento son esenciales para evitar su instauración endémica.

130

ACTIVIDAD COMPARATIVA DE DAPTOMICINA FRENTES A ENTEROCOCOS Y ESTREPTOCOCOS AISLADOS EN TRES HOSPITALES. PROGRAMA SENTRY ESPAÑA (2002-04)

E. Loza¹, F. Tubau², M.I. Morosini¹, C. Ardanuy², A. Pascual³, J. Liñares² y R. Cantón¹

¹Servicios de Microbiología. Hospitales Universitarios Ramón y Cajal. Madrid, ²Bellvitge. Barcelona, ³Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivo: Evaluar la actividad de daptomicina (DAP), antibiótico lipopeptídico bactericida, frente a cepas clínicas de enterococos y estreptococos recogidos en 3 hospitales españoles, programa SENTRY (2002-04).

Material y métodos: El estudio de sensibilidad de 144 enterococos (122 *Enterococcus faecalis*, 18 *E. faecium* y 4 *Enterococcus* spp.) y 82 estreptococos (42 *Streptococcus pyogenes*, SGA, 14 *Streptococcus agalactiae*, SGB, y 26 *Streptococcus* del grupo viridans, SGV) fue centralizado en JMI Laboratories (Iowa, EEUU) y realizado por la técnica de microdilución (CLSI).

Resultados: El 100% de los enterococos fue sensible a DAP y linezolid (LNZ) y el 99,3% a teicoplanina (TEI), 98,5% a vancomicina (VAN), 54,8% a ciprofloxacina (CIP), 39,6% a tetraciclina (TET), 24,5% a rifampicina (RIF) y 9,7% a eritromicina (ERT). El alto nivel de resistencia a gentamicina en *E. faecalis* y *E. faecium* fue del 36,3% y 5,9%, respectivamente y a estreptomicina del 5,9% y 47,0%, respectivamente. La resistencia a ampicilina en *E. faecium* fue del 72,2%. En *E. faecalis*, DAP y VAN (CMI₅₀, 1 µg/ml) fueron algo más activas que LNZ (2 µg/ml) y claramente superiores a quinupristina-dalfopristina (QD) (> 2 µg/ml), siendo similar para *E. faecium* (1-2 µg/ml). DAP, LNZ, QD, RIF, cloranfenicol y VAN fueron activos frente a todos los estreptococos. Penicilina (PEN) y ERT fueron activas frente al 100% de las cepas de SGA y SGB. En SGV, el 54% de las cepas fue sensible a PEN, 92% a ceftriaxona y cefepima y 96% a ERT. La resistencia a ERI fue del 48% en SGA (94% fenotipo M; 6% MLSB), 28% en SGB (50%; 50%) y 50% en SGV (38%; 62%). La sensibilidad a TET y a cotrimoxazol (SxT) en SGA fue del 93% y 98%, respectivamente, del 21% y 100% en SGB y del 69% y 85% en SGV. Aunque el 100% de los estreptococos fue sensible a levofloxacina (LEV) y a gatifloxacina, 2 SGA (5%) y 1 SGV (4%) tuvieron CMIs de LEV de 2 µg/ml que podrían tener mutaciones de primer nivel en las QRDR. No se encontraron diferencias significativas en la actividad de DAP frente a aislados sensibles o multirresistentes.

Conclusiones: La DAP, al igual que el LNZ, fue activa frente a todos los aislados estudiados. La actividad intrínseca de DAP no se modificó con la co-resistencia a uno o varios antimicrobianos.

131

VALIDACIÓN DE LA APLICACIÓN INFORMÁTICA MIURA PARA EL ANÁLISIS EVOLUTIVO DE RESISTENCIAS BACTERIANAS

M.J. Moll¹, E. Castillo¹, J. Colomina^{1,2} y A. Guerrero^{1,2}

¹Unidad de Investigación-Docencia y ²Servicio de Microbiología. Hospital de la Ribera. Alzira, Valencia.

Introducción y objetivo: Las aplicaciones informáticas para el análisis de resistencias bacterianas necesitan ser validadas antes de su empleo. El programa informático NE-XUS es un sistema informático de laboratorio (SIL) que permite analizar datos de sensibilidad bacteriana a los distintos antibióticos aunque requiere la depuración manual de los mismos (eliminación de muestras repetidas, errores post-análisis, etc.), lo que ralentiza la obtención de los resultados finales de resistencias bacterianas. Recientemente, se ha desarrollado una aplicación informática denominada MIURA (Modelo Integral para el Uso Racional de Antibióticos) que permite la obtención, a tiempo real, de datos de consumo de

antibióticos y de resistencias bacterianas, así como el análisis evolutivo y comparativo de dichos datos, y la generación de alertas microbiológicas previamente definidas por el usuario. El objetivo de este estudio fue comprobar que los datos obtenidos de forma automática con el MIURA no difieren estadísticamente de los resultados obtenidos tras filtrar los datos de NEXUS.

Material y métodos: Se seleccionaron 3 años (2000, 2003 y 2004). Para cada año se obtuvieron los datos mensualizados de sensibilidad a partir del MIURA y de la base, previamente transformada, de NEXUS. Se calculó la media de los porcentajes mensuales de sensibilidad de 8924 aislamientos de *Escherichia coli* (como prototipo de gramnegativo) frente a amoxicilina/clavulánico (AMC), y 612 de *Staphylococcus aureus* (como prototipo de grampositivo) frente a oxacilina (OXA). Para comparar las medias se utilizó una prueba t de Student, considerando el error de tipo I (α) igual a 0,05.

Resultados: No se encontraron diferencias significativas entre las medias anuales de los porcentajes de sensibilidad de *E. coli* frente a AMC (2000, $p = 0,68$; 2003, $p = 0,75$; 2004, $p = 0,58$), ni de *S. aureus* frente a OXA (2000, $p = 0,68$; 2003, $p = 0,99$; 2004, $p = 0,87$) durante los años de estudio comparados.

Conclusión: No se encontraron diferencias estadísticas entre los datos brutos obtenidos a partir de la aplicación informática MIURA y los datos netos del SIL, por tanto, se pueden obtener las tasas de sensibilidad, indistintamente, de cualquiera de ellos.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el FIS (PI C03/14 y PI 031624).

132

SALMONELLA ENTERICA PORTADORA DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) AISLADAS EN ZARAGOZA DURANTE LOS AÑOS 2001-2005

M. Pardos, C. Seral, M.I. Millán, M.A. Arias, M.P. Macipe, M.E. Llaneza, M.C. Rubio y F.J. Castillo

Servicio de Microbiología y Parasitología Clínica.
H. C. U. Lozano Blesa. Zaragoza.

Objetivos: Estudiar la incidencia y caracterizar las βlactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas de *Salmonella enterica* aisladas de coprocultivos (2001-2005).

Material y métodos: Se determinó la sensibilidad antibiótica mediante el sistema WIDER® de microdilución a 2170 cepas de *S. enterica* aisladas de coprocultivos en el laboratorio entre 2001 y 2005. Las cepas compatibles con BLEE se confirmaron mediante doble difusión con discos de cefotaxima (CTX), ceftazidima (CAZ), cefepime (CPM) y amoxicilina/clavulánico (AM/C) y con E-test® de CTX-CTX/C, CAZ-CAZ/C y CPM-CPM/C. Se estudió la sensibilidad a ertapenem. A las cepas BLEE se les realizó PCR de los genes: *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M-9}* y *bla_{CTX-M-10}* y campo pulsado (digestión con XbaI).

Resultados: De las 2170 *S. enterica* aisladas, los serotipos más frecuentes fueron: *Enteritidis* (60,78%), *Typhimurium* (26,08%) y *Virchow* (10,83%). Se encontraron 9 cepas de *S. enterica* portadoras de BLEE, serotipos *Typhimurium* (0,88%, [5/566]) y *Virchow* (1,7%, [4/235]). La incidencia de *S. enterica* serov. *Typhimurium* y *Virchow* portadoras de BLEE en los distintos años fue, respectivamente: 2002 (0% y 4%), 2003 (2,2% y 2,8%), 2004 (0,9% y 2,4%) y 2005 (2,3% y 0%). El fenotipo predominante fue resistente a CTX, CPM y sensible a CAZ (6 cepas). El 44,44% fueron resistentes a nalidíxico y todas sensibles a ertapenem (rango de CMIs 0,012-0,047 mg/L). Los genes hallados fueron: *bla_{TEM}* (77,8%), *bla_{CTX-M-9}* (44,4%), *bla_{CTX-M-10}* (44,4%) y *bla_{SHV}* (0%). En las 4 cepas *Virchow* coexistían tres genes. En dos cepas *Typhimurium* no se encontró ningún gen. Las cepas BLEE procedían de pacientes extrahospitalarios. Aparecen dos patrones de campo pulsado, compatibles con los dos serotipos.

Conclusiones: La primera BLEE en *S. enterica* aparece en nuestro medio en 2001. Se ven afectados dos serotipos, *Typhimurium* y *Virchow*.

himuriun (*bla_{TEM}*) y *Virchow* (*bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M-9}* y *bla_{CTX-M-10}*), y mantiene una frecuencia baja hasta la actualidad. Aclarar el origen de estas cepas y los mecanismos involucrados en la difusión de los genes de resistencia es prioritario.

133

ACTIVIDAD DE DAPTOMICINA FREnte A AISLADOS CLÍNICOS RECIENTES DE ESPAÑA Y PORTUGAL

M.I. Morosini¹, F. Almaraz¹, E. Loza¹, I. Morrissey², F. Baquero¹, R. Cantón¹ y Grupo Ibérico del European Daptomycin Surveillance Study

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

²G.R. Micro Ltd (UK).

Introducción: Las limitaciones terapéuticas en el tratamiento de las infecciones por microorganismos Gram positivos exigen la valoración de nuevas alternativas, entre ellas daptomicina (DAP), compuesto lipopeptídico con actividad bactericida.

Objetivo: Estudiar la actividad de DAP frente a patógenos Gram positivos obtenidos durante 2004-05 en comparación con la de vancomicina (VAN), teicoplanina (TEI), linezolid (LNZ), quinupristina-dalfopristina (QD) y levofloxacina (LVF).

Material y métodos: Se estudiaron 404 aislados (29% bacteriemias, 23% tejidos blandos, 4% endocarditis y 44% de otras localizaciones) de 8 hospitales españoles y 3 portugueses: 39 *S. aureus* sensibles a meticilina (SASM), 61 *S. aureus* resistentes a meticilina (SARM), 24 estafilococos coagulasa negativa (SCNSM), 61 SCNRM, 38 *E. faecalis* sensibles a VAN (VS), 10 *E. faecalis* resistentes a VAN (VR), 31 *E. faecium* VS, 23 *E. faecium* VR, 78 estreptococos β-hemolíticos (EβH), 23 estreptococos viridans (EGV) y 16 corinebacterias. La sensibilidad (microdilución-CLSI) se estudió en GR Micro Ltd (UK).

Resultados: La actividad de DAP frente a SASM y SARM (CMI₉₀, 1 µg/ml) fue similar a la de VAN y TEI (1-2 µg/ml). En SCNSM (1 µg/ml) y SCNRM (0,5 µg/ml) la actividad de DAP fue superior a VAN (2 µg/ml) y TEI (8 µg/ml). En *E. faecalis* VS, la actividad de DAP (2 µg/ml) fue igual que la de VAN y algo inferior a la de TEI (0,25 µg/ml). En *E. faecium* VS, DAP (4 µg/ml) fue algo menos activa que VAN (1 µg/ml) y TEI (0,5 µg/ml). En enterococo, la CMI modal de DAP no se modificó con la resistencia a VAN. En EβH, DAP, VAN y TEI mostraron una elevada actividad intrínseca, rango CMI₉₀: 0,06-0,5 µg/ml. En EGV, el compuesto más activo fue TEI (CMI₉₀, 0,12 µg/ml) siendo la CMI modal de DAP, VAN y TEI de 1, 0,5 y 0,06 µg/ml, respectivamente. Frente a las corinebacterias, DAP, VAN y TEI fueron muy activos, con rangos de CMI modal de 0,25-0,5 µg/ml. El 100% de los aislados fue sensible a LNZ, el 78,7% a QD y el 54% a LVF. Sólo se encontró un aislado (SCNRM) con sensibilidad disminuida a DAP (2 µg/ml).

Conclusión: La actividad in vitro de DAP muestra a este compuesto como una alternativa a VAN, TEI y LNZ frente a SASM y SARM y resulta una opción frente a enterococos VR y SCNSM y SCNRM.

134

SITUACIÓN ACTUAL DE LA CO-RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN ENTEROBACTERIAS: ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE AISLADOS RESISTENTES Y SENSIBLES A CEFALOSPORINAS DE TERCERA GENERACIÓN

M.J. Goyanes, A. Morente, R. Insa, L. Alcalá, E. Bouza y E. Cercenado

Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Objetivos: En los últimos años ha aumentado la incidencia de enterobacterias (Eb) resistentes a cefalosporinas de ter-

cera generación (C3G). En este estudio se compara la co-resistencia a varios grupos de antibióticos entre enterobacterias productoras y no productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE), y entre hiperproductoras y no hiperproductoras de beta-lactamasas de tipo AmpC (h-AmpC).

Material y métodos: De analizaron todas las Eb aisladas en nuestro hospital durante un periodo de dos años (2004-2005). Se determinó la sensibilidad a antimicrobianos (cefotaxima (CFT), ciprofloxacino (CP), gentamicina (GM), tobramicina (TO), amikacina (AK), cotrimoxazol (T/S), imipenem (IMP), fosfomicina (FOS)) por el método de microdilución en caldo utilizando el sistema MicroScan. Sólo se evaluó la actividad de FOS frente a aislados urinarios. La determinación de los puntos de corte y la detección y confirmación de BLEE se realizó siguiendo las normas del CLSI. Para la confirmación de BLEE/h-AmpC se utilizó la prueba de doble difusión con discos.

Resultados: Se aislaron 16.122 Eb, de las cuales el 15% (2.383) eran resistentes a C3G. Los porcentajes de sensibilidad de éstas a diferentes antimicrobianos en comparación con las cepas sensibles a C3G fueron, respectivamente: CP 54% vs. 83%, GM 55% vs. 93%, TO 41% vs. 94%, AK 93% vs. 99%, T/S 46% vs. 82%, IMP 99% vs. 100%. Todas las diferencias fueron significativas ($p < 0,001$). No hubo diferencias significativas en la sensibilidad de aislados de sangre (1.553, 10% del total), frente a aislados de otros orígenes, pero los aislados de orina (9.032, 56% del total) fueron significativamente más resistentes ($p < 0,001$) a CP, GM, TO, AK y T/S que el resto de los aislados. En las Eb productoras de BLEE (1.821), los porcentajes de sensibilidad fueron: CP 49%, GM 49%, TO 41%, AK 92%, T/S 46%, IMP 100%; y en las h-AmpC (562): CP 67%, GM 75%, TO 76%, AK 97%, T/S 70%, IMP 97%. La sensibilidad a FOS fue del 80% en los aislados resistentes a C3G, 93% en las sensibles a C3G, y 90% en las Eb productoras de BLEE.

Conclusiones: En nuestro medio, las Eb resistentes a C3G presentan elevada co-resistencia a múltiples clases de antimicrobianos independientemente del mecanismo de resistencia. Amikacina e imipenem son la única alternativa frente a estos microorganismos. Fosfomicina presenta una elevada actividad frente Eb multi-resistentes, principalmente frente a las productoras de BLEE.

135

LISTERIA MONOCYTOGENES: INCIDENCIA Y EVOLUCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS, EN EL DEPARTAMENTO DE SALUD DE ELCHE (ALICANTE)

J.M. Álvarez*, E. Pastor*, F. Loredo*, L. Soler*, I. Escrivano***, F. Gutiérrez** y G. Royo*

*Sección de Microbiología y **Servicio de Medicina Interna (Unidad de Enfermedades Infecciosas), Hospital General de Elche. ***Unidad de Microbiología del Hospital de Alcoy.

Objetivos: Describir las infecciones por *Listeria monocytogenes* en nuestro departamento de Salud y averiguar si se ha producido un cambio de susceptibilidad en el periodo 1995-2005.

Material y métodos: Estudio descriptivo mediante revisión manual de historias clínicas de pacientes infectados por *L. monocytogenes*. Estudio de susceptibilidad determinando CMI (paneles Wider), testando entre otros: penicilina, ampicilina, cefotaxima, vancomicina, ciprofloxacina y levofloxacina, gentamicina, linezolid y trimeto-ulfametoxazol.

Resultados: Se detectaron 28 casos, lo que supone una incidencia anual de 1,16 casos por 100.000 habitantes. El 80% de cepas serotipadas fueron del serogrupo 4 y las restantes del serogrupo 1. El rango de edad fue de 0 a 84 años, con picos en la séptima y octava década de la vida (media

66,5 años) y predominio masculino (64,3%), casi siempre con patología subyacente. Sepsis/bacteriemia y/o meningitis fueron las principales formas clínicas. Tras el diagnóstico etiológico la ampicilina fue el antibiótico más utilizado. La mortalidad fue del 53,57%, asociada fundamentalmente a sepsis y enfermedad subyacente grave (neoplasia avanzada).

Conclusiones: La incidencia de *Listeria* en nuestro departamento es similar a la descrita por la literatura en España. *Listeria* provoca cuadros muy graves con elevada mortalidad, generalmente en pacientes de edad avanzada y con enfermedad subyacente. Es sensible in vitro a penicilina G, ampicilina, cotrimoxazol, cloranfenicol, ciprofloxacino, levofloxacina y aminoglucósidos. Linezolid mostró CMI-s inferiores o iguales a 2, en todas las cepas testadas. Como es habitual todas las cepas fueron resistentes a cefotaxima. El patrón de sensibilidad ha permanecido estable a lo largo del periodo de estudio. A diferencia de otros estudios, no se han detectado variaciones en la CMI a quinolonas, ni cepas multiresistentes.

136

FENOTIPO LSA EN STREPTOCOCCUS AGALACTIAE AISLADOS DE MUESTRAS VAGINO-RECTALES EN EL ÁREA SANITARIA 10 DE MADRID

F.J. Pérez-Millán, J. Cacho, A. García-Cañas, T. Soria y M. Sánchez-Concheiro

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Getafe.

La penicilina G y la ampicilina son los antibióticos de elección para la prevención o el tratamiento de las infecciones por *Streptococcus agalactiae*, mientras que la eritromicina y la clindamicina se recomiendan como alternativa. La resistencia a la eritromicina y la clindamicina ha ido en aumento durante la última década en muchos países.

Objetivo: Estudiar la sensibilidad a antibióticos de las cepas de *S. agalactiae* para evaluar la utilización intraparto de estos antibióticos en la profilaxis de la sepsis de neonatos en gestantes colonizadas por *S. agalactiae*.

Materiales y métodos: Durante el año 2005 se estudió en el área sanitaria 10 de Madrid la sensibilidad de 375 cepas de *S. agalactiae* aisladas de muestra vagino-rectales de mujeres entre las semanas 35 y 37 de gestación. La sensibilidad a la penicilina, eritromicina, clindamicina y a la vancomicina se realizó por el método de agar difusión y se interpretó según los criterios del NCCLS. A las cepas resistentes a la eritromicina o a la clindamicina se les practicó el estudio del fenotipo de resistencia mediante la técnica de doble disco difusión.

Resultados: Todas las cepas fueron sensibles a la penicilina y a la vancomicina. Un total de 41 cepas (11%) fueron resistentes a la eritromicina y 60 (16%) a la clindamicina. La distribución de los fenotipos de las cepas resistentes a eritromicina fue: 30 (73%) cepas con MLS_B constitutivo, nueve (22%) con MLS_B inducible y dos (5%) con fenotipo M. Veintiuna (35%) de las cepas resistentes a clindamicina se mantuvieron sensibles a la eritromicina.

Conclusiones: Debido al número de resistencia a la eritromicina (11%) y a la clindamicina (16%) no podemos recomendar la utilización empírica intraparto de estos antibióticos en mujeres alérgicas a los betalactámicos. Por ello, la prueba de sensibilidad a estos antibióticos debería realizarse en todas las cepas de *S. agalactiae* aisladas de muestras vagino-rectales. El fenotipo predominante de cepas resistentes a la eritromicina ha sido el fenotipo MLS_B constitutivo (73% de las cepas). A diferencia de otros estudios, nosotros encontramos más cepas resistentes a la clindamicina que a eritromicina. El 35% de las cepas resistentes a la clindamicina era sensible a la eritromicina. Este patrón ha sido descrito como un nuevo fenotipo "fenotipo LSA".

137

ACTIVIDAD DE DAPTOOMICINA FREnte A ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVOS (ECN): PROGRAMA SENTRY (2003-04)

J.C. Alcalá¹, J.R. Hernández¹, R. Cantón², J. Liñares³ y A. Pascual¹

¹HUV Macarena, Sevilla. ²HU Ramón y Cajal, Madrid. ³HU de Bellvitge, Barcelona.

Objetivos: SENTRY es un programa internacional y longitudinal de vigilancia de resistencia bacteriana a los antimicrobianos. El objetivo de este estudio es evaluar la actividad de 20 antimicrobianos frente a cepas de ECN aisladas en 3 centros españoles participantes en el Programa SENTRY durante los años 2003-2004.

Material y métodos: Se determinó mediante microdilución (normas CLSI) la actividad de daptomicina (DAP), amoxicilina/clavulánico (AMC), cefepime (FEP), ceftriaxona (CRO), cloranfenicol (CAF), ciprofloxacino (CIP), clindamicina (CLD), eritromicina (ERI), gatifloxacino (GAT), gentamicina (GN), imipenem (IMP), levofloxacino (LEV), linezolid (LNZ), oxacilina (OXA), quinupristin/dalfopristin (QD), rifampicina (RIF), teicoplanina (TEI), tetraciclina (TET), cotrimoxazol (SxT) y vancomicina (VC) frente a 129 aislamientos de ECN correspondientes a los 3 hospitales españoles participantes del programa SENTRY. Estos incluían a 98 aislamientos de *S. epidermidis* (76%), 6 *S. haemolyticus*, 6 *S. hominis*, 6 *S. warnerii*, 3 *S. lugdunensis*, 2 *S. auricularis*, 1 *S. capititis*, 1 *S. intermedius*, 1 *S. saprophyticus*, 1 *S. simulans* y 4 ECN.

Resultados: De los 129 aislamientos, 109 se aislaron de sangre, 14 de infecciones de partes blandas y el resto de diferentes muestras. Los antimicrobianos más activos (100% de sensibilidad en el total de las cepas) fueron DAP, LNZ, QD, y VC. De estos, las CMI₉₀ más bajas fueron las de DAP y QD (0,5 mg/l). El 73,6% de las cepas eran resistentes a meticilina (ECNRM). Las principales diferencias de sensibilidad entre ECNRM y ECNSM para antimicrobianos diferentes a los betalactámicos fueron CAF (89,5% vs. 100%), CIP (32,6% vs. 97%), GAT (47,4% vs. 97%), LEV (32,6% vs. 97%), GN (52,6% vs. 97%), RIF (90,5% vs. 100%), TET (86,3% vs. 97%), SxT (60% vs. 100%), ERI (26,3% vs. 79,4%) y CLD (74,7% vs. 100%).

Conclusiones: De los antimicrobianos evaluados, DAP, LNZ, QD, y VC, fueron los más activos in vitro (100% de sensibilidad) frente a las cepas de ECN incluidas en el programa SENTRY, siendo DAP y QD las que ofrecieron los valores de CMI₉₀ más bajos.