

alto porcentaje de cepas resistentes a aminoglucósidos y quinolonas. Se realizó una lectura a vancomicina a las 24 y 48 h para la detección de posibles cepas VISA no detectándose ninguna. Es importante destacar la detección de dos cepas de pacientes ingresados en la UCI de nuestro hospital con una CMI elevada a linezolid (CMI = 4 µg/ml). Respecto al análisis clonal de las cepas en estudio se obtuvo una gran variabilidad clonal en el Hospital, sin embargo se observaron importantes asociaciones de cepas a los Servicios en los que se encontraban ingresados los pacientes de los que se obtuvieron los aislados, agrupándose en clones: Un clon (3 cepas) asociado al Servicio de Geriatría, un clon distinto del anterior (3 cepas) asociado a uno de los Servicios de Medicina Interna, un tercer clon (2 cepas) asociado al Servicio de Medicina Intensiva Cardiovascular y por último un clon mayoritario formado por 8 cepas asociadas a la UCI del hospital y que presentaron además una elevada resistencia antibiótica. A este clon pertenecen las dos cepas encontradas con CMI a linezolid de 4 µg/ml.

Conclusión: Los resultados obtenidos revelan la importancia del estudio y análisis clonal de cepas de SARM en hospitales con el fin de realizar un control de posibles brotes dentro de los mismos especialmente en Servicios como la UCI, más susceptibles a este tipo de situación debido a la elevada presión antibiótica.

045. INCIDENCIA Y CARACTERÍSTICAS EN LA DETECCIÓN Y COMPORTAMIENTO DE *S. AUREUS* RESISTENTE A OXACILINA (SARO) EN UNA UCI POLIVALENTE

F. Barcenilla¹, A. Jover¹, D. Castellana¹, R.M. López¹, J. Torres², M. García³ y M. Vallverdú⁴

¹Unidad Funcional Infección Nosocomial. ²Sección de Epidemiología. Servicio Territoriales de Salud. Universitat de Lleida. ³Servicios de Microbiología. ⁴Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario Arnau de Vilanova. Lleida.

Objetivos: Analizar la incidencia y características de SARO de una UCI polivalente (18 camas).

Sujetos y métodos: Estudio descriptivo longitudinal prospectivo de todos los pacientes ingresados en UCI desde enero de 2003 a diciembre de 2008 (6 años completos), que en algún momento de su ingreso habían tenido un cultivo positivo a *S. aureus* resistente a oxacilina (SARO) de adquisición nosocomial. A todos los pacientes con resultados positivos se les realizó aislamiento de contacto y descontaminación nasal.

Resultados: En el período de estudio ingresaron 4.498 pacientes que generaron 37.859 estancias. 98 pacientes (5 reingresos) tuvieron al menos un cultivo positivo. La densidad de incidencia para SARO global fue 2,5% estancias (rango anual: 1,9%-3,6%). El 76% de los pacientes fueron varones, con una mediana de edad 54,4 años (rango: 15-89 años). El tiempo medio en su detección desde el ingreso fue de 24,5 días (rango: 0-115 días). Existió un período ciego de 2,9 días (rango: 0-6 días), entendido como aquel espacio comprendido desde la obtención del cultivo al conocimiento del resultado y realización del aislamiento. En el 13% de los casos, la identificación del germe fue posterior al alta de UCI. Sobre 96 pacientes (en 2 no se disponen de datos), el 41% estaban infectados y el 59% colonizados. Las localizaciones más frecuentes donde se aisló SARO por primera vez fueron: broncoaspirado (58%) y faringe (11%). La asociación con otros microorganismos multirresistentes, se evidenció en un 80% de los pacientes, en especial *Acinetobacter baumannii* (53 casos) y *Pseudomonas* spp. (12 casos). Fue posible la negativización en 52 enfermos (53%). La mortalidad cruda intra UCI de los pacientes alcanzó el 19%.

Conclusiones: En nuestra unidad, la presencia de SARO de adquisición nosocomial parece baja y se mantiene estable en el tiempo. La asociación de SARO con otros patógenos multirresistentes es elevada. Se deben establecer mecanismos de detección más precoces para estos microorganismos encaminados a reducir o anular los períodos ciegos.

046. TRANSMISIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA ENTRE COMPAÑEROS DE HABITACIÓN

L. Robles¹, J. Lozano¹, E. Riquelme¹, A. Gómez-Juárez², J. Blas¹, L. Moreno¹ y M.D. Crespo¹

¹Laboratorio de Microbiología. ²Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. Albacete.

Introducción/objetivo: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es un patógeno nosocomial que ocasiona una alta morbi-mortalidad. Nuestro objetivo es conocer la transmisión de SARM de enfermos infectados/colonizados a pacientes con los que comparten habitación durante su estancia en el hospital y evaluar si presentan algún factor de riesgo asociado.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de los compañeros de habitación de los pacientes en los que se ha aislado SARM en nuestro hospital durante un periodo de 6 meses (Julio-Diciembre 2008). La información se ha obtenido mediante revisión de los informes de alta y a partir de la base de datos del Servicio de Medicina Preventiva. Se consideró compañero de habitación a aquel paciente que había compartido habitación con el caso índice ≥ 48 horas.

Resultados: Se estudiaron 44 pacientes con infección/colonización por SARM; 28 compartieron habitación con algún compañero. En estos últimos, se aisló SARM en diferentes muestras clínicas: 11 exudados, 10 muestras respiratorias, 4 orinas y 3 hemocultivos. De los 28 casos índice, 23 estaban colonizados, 4 sólo infectados y de 1 no constaba la información. Fueron 18 varones y 10 mujeres, edad media 70 años [36-103]. Estudiamos un total de 36 pacientes que cumplieron el criterio de compañero. En ellos se realizaron estudios de colonización resultando: 6 colonizados (16,6%), 27 no colonizados y 3 sin estudios disponibles. Se tomaron muestras nasales (5 positivos), inguinales (4 positivos) y axilares (1 positivo). La distribución por sexo fue: 23 hombres y 13 mujeres, edad media 70,35 años [44-95]. El tiempo medio de contacto fue de 7,8 días: 25 (≤ 1 semana) y 11 (> 1 semana). De los 6 colonizados, 4 compartieron habitación durante menos de 7 días y 2 más de 2 semanas. Los factores de riesgo evaluados fueron (no colonizados/colonizados): diabetes (4/1), ser portador de catéter urinario (5/0), enolismo (3/0), ingresos previos en el último año (19/3) y movilidad dependiente (3/1).

Conclusiones: Más del 80% de los casos índices están colonizados, obteniéndose un mayor rendimiento en el frotis nasal. La mayoría fueron hombres con una edad superior a los 65 años. La tasa de colonización de los compañeros fue del 16,6%. El tiempo medio de contacto fue inferior a una semana en la mayoría de los pacientes. Ninguno de los factores de riesgo evaluados se asoció a la transmisión de SARM.

Sesión 4:

SARM: aspectos microbiológicos. *Estafilococos coagulasa negativos*

047. INTERÉS DE UNA NUEVA TÉCNICA DE MICROBIOLOGÍA MOLECULAR PARA EL DIAGNÓSTICO DE MRSA

M.M. Casal, M. Causse, F. Rodríguez y M. Casal

Servicio de Microbiología y Parasitología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Introducción/objetivo: En la actualidad el fenómeno MRSA (estafilococo *aureus* meticilin resistente) constituye el principal problema de resistencia en microorganismos patógenos para el hombre. En España desde su primera descripción en 1981 su incidencia ha ido en aumento hasta cifras de alrededor del 30% en enfermos hospitalarios y se extiende a la comunidad. Estas cepas se caracterizan por la re-

sistencia múltiple a fármacos como amino glucósidos, cloranfenicol, tetraciclinas, macrolídos y quinolonas, lo que complica su tratamiento. Por ello su diagnóstico rápido es fundamental.

El objetivo de nuestro trabajo fue comprobar la validez de una técnica nueva de PCR a tiempo real (BD Genohm Staph SR) para la identificación y diferenciación de MSSA (*estafilococo aureus* sensible a meticilina) y MRSA, en el screening de pacientes con septicemia (mas de dos hemocultivos positivos en 2, 3 parejas) en comparación con la técnica convencional de paneles de identificación con lectura semiautomatizada en el sistema WIDER I.

Material y métodos: Se procesaron un total de 87 muestras correspondientes a un mismo número de pacientes. La detección de MRSA y MSSA se realizó a todas aquellas muestras de sangre procedentes de enfermos con septicemia, a los cuales se les realizaron una tinción de Gram, comprobándose las que eran cocos Gram. positivos en racimo. A continuación a dichas muestras se le realizó la PCR a tiempo real (BD Genohm MRSA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se obtuvieron resultados en un tiempo inferior a 2 horas. Esta técnica nos sirve para detectar tanto MRSA, como MSSA. A la misma vez se realizó su identificación por la vía convencional, mediante la catalasa positiva, identificación con aglutinación en látex (staphSlidex) y el método semiautomatizado WIDER I.

Resultados: Las 87 cepas fueron correctamente identificadas correspondientes a 14 MRSA 18 MSSA y el resto que resultaron ser coagulasa negativa. Para la detección de *Estafilococo aureus* con la técnica de BD Geneohm StaphSR se obtuvieron una sensibilidad y especificidad del 100% en nuestra serie. En comparación con las técnicas convencionales se consiguió un ahorro de tiempo de 46 horas.

Conclusiones: La técnica del BD GeneOhm StaphSR parece ser una valiosa herramienta de diagnóstico para poder identificar rápidamente una bacteriemia causada por MRSA o por MSSA.

048. UTILIDAD DE UN MÉTODO COMERCIAL DE PCR PARA LA DETECCIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS SENSIBLE/RESISTENTE A METICILINA (MSSA/MRSA) EN INFECCIONES DE PARTES BLANDAS Y PIE DIABÉTICO

B. Puche¹, A. Úbeda², J.L. García-López¹, M. Marín², C. Castro¹, F. Lucena² y E. Martín-Mazuelos¹

¹U.G.C. Microbiología. ²Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias. H.U. Virgen de Valme. Sevilla.

Introducción/objetivos: Debido al aumento de la incidencia de MRSA en infecciones de partes blandas y pie diabético (IPB-PD), la necesidad de instaurar un tratamiento adecuado y adoptar medidas preventivas, hacen que el diagnóstico precoz sea una herramienta necesaria en nuestro medio. El objetivo de este trabajo fue evaluar un método comercial de PCR para la detección de MSSA/MRSA en muestras de IPB-PD, comparada con los métodos de cultivo convencionales.

Material y métodos: Llevamos a cabo un análisis prospectivo en pacientes con IPB-PD que acudieron al Área de Urgencias de nuestro Centro y requirieron ingreso hospitalario durante el año 2008. Se procesaron 2 muestras por paciente, una para cultivo y otra para PCR. El cultivo se realizó en agar sangre, agar MacConkey, agar chocolate y placas cromogénicas para MRSA (bioMérieux) y la PCR se llevó a cabo mediante el Xpert™ MRSA/SA SSTI Assay (Cepheid Innovation) en el instrumento GeneXpert, siguiendo las instrucciones del fabricante.

Resultados: Analizamos 148 muestras de 139 pacientes con una edad media de $67,4 \pm 15,7$ años. El 44,6% (66) de los cultivos fueron negativos, en el 18,9% (28) se aisló MSSA, en el 6,8% (10) MRSA y en el 29,7% (44) otros microorganismos. Mediante PCR el 61,5% (91) de los casos fueron negativos, en el 33,1% (49) se detectó MSSA y MRSA en el 5,4% (8). Siete MRSA fueron detectados por cultivo y PCR, tres sólo por cultivo y uno sólo por PCR. En 25 muestras se detectó MSSA por ambos métodos, en 23 sólo por PCR y en 3 sólo por cultivo. El

resultado del cultivo se obtiene entre 48 y 72 horas reduciéndose a una hora por PCR.

Conclusiones: 1. Hasta en el 6,8% de los pacientes que acuden a Urgencias por presentar IPB-PD pueden estar infectados/colonizados por MRSA. 2. La PCR es un método rápido y eficaz para la detección tanto de MSSA como MRSA.

049. EVALUACIÓN DE UN SISTEMA COMERCIAL DE PCR PARA LA DETECCIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTES A METICILINA (MRSA) EN FROTIS NASALES

M.C. Gómez¹, P. Egea¹, L. López-Cerero¹, F. Fernández-Cuenca¹, N. Batista¹, P. Vilches¹, L. García², C. Lupión² y A. Pascual¹

¹Servicio de Microbiología. ²Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Introducción: La detección rápida de pacientes colonizados por MRSA al ingreso en UCI ha demostrado ser una de las intervenciones más efectivas para el control de la transmisión de este patógeno. El objetivo de este estudio fue evaluar una técnica comercial de PCR en tiempo real para la detección rápida de MRSA en frotis nasal (GeneOhm MRSA, BD) y compararlo con los métodos de cultivo.

Material y métodos: Se obtuvieron 853 muestras de frotis nasales (diciembre 2007–enero 2009) de todos los pacientes en el momento de su ingreso en UCI (90%), así como a los pacientes procedentes de otras instituciones sanitarias (10%). Las primeras 118 muestras fueron procesadas para PCR según las instrucciones del fabricante y simultáneamente se procesaron para cultivo convencional en agar sangre. Las 735 muestras restantes se procesaron sólo para PCR y se procedió al cultivo si el resultado era positivo, inoculándolas en agar sangre y en caldo peptonado con 6% CINA. El cultivo se leyó a las 24 y 48 horas. La identificación de MRSA se realizó mediante pruebas bioquímicas, aglutinación con Slidex Staph Plus (bioMérieux) y crecimiento en agar Mueller Hinton con 6mg/l de oxacilina. La comparación de la media del tiempo de informe se realizó con la prueba t de Student y se consideraron diferencias significativas valores de $p < 0,05$.

Resultados: Se detectó MRSA por PCR en 36 muestras (4%), de las cuales 20 fueron positivas (56%) para MRSA mediante cultivo. En 7 muestras positivas por PCR (19%) se aisló *S. aureus* sensible a meticilina y en 9 (25%) no se detectó la presencia de *S. aureus*. En ninguna muestra con PCR negativa se aisló MRSA. Sólo uno de los 16 pacientes con PCR positiva/cultivo negativo tenía otras muestras con cultivos positivos. No se pudo obtener amplificación, por inhibición de la PCR, en 42 (5%) muestras, en las que el cultivo para MRSA fue negativo. El tiempo de informe era inferior si la técnica se realizaba 3 veces (media 1,26 días) que si se llevaba a cabo 2 veces por semana (1,84 días) ($p < 0,001$), mientras que el resultado del cultivo se obtenía a los 3 días.

Conclusiones: La técnica de PCR permite detectar portadores de MRSA en menor tiempo que el cultivo convencional, pudiéndose implantar medidas de aislamiento más tempranas. Las muestras positivas por PCR en las que no se detectó crecimiento en cultivo de MRSA pueden proceder de pacientes con baja colonización o colonizados por cepas de estafilococos con SCC sin mec.

050. UTILIDAD DEL TIPADO MOLECULAR POR PCR-RFLP EN EL ESTUDIO DE UN BROTE DE SARM MULTIRRESISTENTE

V. Domínguez¹, I. Aleixandre², A. Burgos³, J. Colomina¹, F. Gimeno¹ y A. Guerrero¹

¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Análisis Clínicos. ³Servicio de Biología Molecular. Hospital Universitario de La Ribera. Alzira. Valencia.

Introducción: El porcentaje de cepas de SARM multirresistentes aisladas en nuestro hospital durante el año 2007, alcanzó cifras cerca-

nas al 30% como consecuencia de un brote declarado en la UCI. Aunque todas las cepas presentaron el mismo antibiotipo, es bien conocido que el patrón de sensibilidad no es útil en la tipificación epidemiológica de *S. aureus*, razón por la que se requieren otras técnicas para establecer correctamente la epidemiología de un brote.

Objetivo: Determinar si los aislados de SARM procedentes de la UCI durante ese periodo pertenecían o no al mismo clon, utilizando un genotipado PCR-RFLP.

Material y métodos: Se estudiaron 17 cepas aisladas de 14 pacientes. La mayor parte fueron de origen respiratorio (82%), seguido de hemocultivos (12%) y de exudados de herida (6%). Para la identificación y el estudio de sensibilidad se utilizó un método semiautomatizado WalkAway (Siemens). La extracción del ADN se realizó usando el sistema Genelute Bacterial Genomic ADN (Sigma) tras un lisado previo con lisostafina (Sigma). El tipado molecular se basó en el análisis del polimorfismo de los productos de amplificación del gen del clumping factor (*clfB*); y del análisis de los genes coagulasa (*coa*) y la proteína A (*spa*) tras restricción con la endonucleasa *CfoI* (Roche). Para la identificación de los genotipos se emplearon parejas de signos (letra latina y números) para diferenciar entre los diferentes perfiles.

Resultados: Todos los aislados de SARM fueron multirresistentes al presentar resistencia a más de dos grupos de antimicrobianos diferentes de los beta-lactámicos; en concreto mostraron resistencia frente a ciprofloxacina, clindamicina y eritromicina, y se mostraron uniformemente sensibles a gentamicina, cotrimoxazol, vancomicina, teicoplanina y linezolid. El genotipado permitió la descripción de 5 patrones distintos: el más prevalente fue el denominado CC2PIV3 con un 65% de las cepas, seguido del CC5PIV3 con un 17%, y el resto CC1PIV1CL β , CC6PII1 y CD1PIV1CL β que representaron un 6% cada uno de ellos.

Discusión y conclusiones: La demostración en nuestro estudio de la existencia de 5 genotipos distintos que comparten el mismo antibiotipo, refuerza la idea de que son necesarios estudios moleculares para esclarecer la epidemiología de un brote. La técnica PCR-RFLP se ha mostrado como un método rápido y sencillo, y puede ser una alternativa a la técnica de referencia PFGE (electroforesis en campo pulsante), con un poder de discriminación suficiente para poder determinar la clonalidad de un brote.

051. IDENTIFICACIÓN RÁPIDA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILÍN RESISTENTE (SAMR) EN LAS INFECCIONES DE PARTES BLANDAS Y PIE DIABÉTICO EN UN ÁREA DE URGENCIAS HOSPITALARIAS

A. Ubeda¹, B. Puche², A. Loza¹, M. Marín¹, J. García López² y F. Lucena¹

¹Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias. ²U.G.C. Microbiología. Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Introducción: La prevalencia de SAMR comunitario ha aumentado. Estos hallazgos obligan a replantear la selección de la antibioterapia empírica, por lo que el diagnóstico precoz se hace fundamental.

Objetivos: Determinar prevalencia de SAMR comunitario en nuestro medio, validar el uso de la PCR para la detección precoz de SAMR en muestras orgánicas y optimizar la detección y el tratamiento dirigido oportuno y medidas de aislamiento si proceden en las infecciones de partes blandas y pie diabético (IPB-PD).

Material y métodos: Estudio prospectivo, realizado durante un año (2008) en pacientes adultos consecutivos con IPB-PD que acuden a Urgencias y requieren ingreso hospitalario. Se registraron variables demográficas, comorbilidades, factores de riesgo para infección por SAMR, resultados microbiológicos y antibioterapia prescrita, desde el ingreso hasta su alta o exitus. Se procesaron 2 muestras por paciente (cultivo convencional y PCR). El cultivo se llevó a cabo por métodos convencionales y la PCR mediante el Xpert™ MRSA/SA SSTI

Assay (Cepheid Innovation). En caso de PCR + se tomó además un frotis nasal.

Resultados: 139 pacientes, edad media $67,4 \pm 15,6$ a. *Factores de riesgo* para SAMR: uso de antibioterapia previa (28,8%), ingreso hospitalario y presencia de SAMR previo (43,2%) y (4,3%), respectivamente, diabetes (44,6%), procedimientos invasivos previos (12,2%), heridas crónicas (47,5%), paciente institucionalizado (7,2%). *Tipo de infección:* celulitis (47,5%), infección PD (29,5%), infección de úlceras por presión (20,1%). El 82,7% de las infecciones no presentaban afectación sistémica. Cultivos de frotis nasal (5,8% SAMR, 4,3% SAMS). Cultivo convencional de la lesión (SAMR 7,2%, SAMS 20,9%, otros 30,9%, negativo 41%). Resultado PCR (SAMR 7,9%, SAMS 37,4%, negativo 54,7%). Los 11 resultados positivos en PCR fueron sometidos a aislamiento de contacto desde Urgencias. Los pacientes fueron inicialmente tratados con amoxicilina-clavulánico (57,6%), ciprofloxacino (10,1%), cloxacilina (7,2%), vancomicina (4,3%). La estancia hospitalaria media en los pacientes con aislamiento de SAMR y el resto, fue de $9,5 \pm 8,8$ días y $8,4 \pm 15,6$ días, respectivamente. La mortalidad global fue de 8,6%.

Conclusiones: En nuestro medio, la tasa de aislamientos de SAMR fue del 6,8%, siendo el 63,6% de ellos, portadores de SAMR (nasal). La detección de SAMR mediante técnicas de PCR en tiempo real en este contexto clínico, permite una rápida identificación de pacientes que pueden ser sometidos a aislamientos y tratamiento antimicrobiano dirigido.

052. DETECCIÓN DE METICILIN-RESISTENCIA EN VARIANTES DE COLONIA PEQUEÑA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (VCP-SA)

N. Batista¹, M.P. Fernández², I. Montesinos³ y O. Díez²

¹Servicio de Microbiología. Hospital Virgen Macarena. Sevilla. ²Sección de Microbiología. Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria. Santa Cruz de Tenerife. ³Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna. Tenerife.

Introducción: El estudio de la sensibilidad antimicrobiana de vcp-SA, asociados a infecciones crónicas o recurrentes, puede presentar diversos grados de dificultad.

Objetivo: Describir los métodos de identificación y susceptibilidad antimicrobiana aplicados a cinco aislados de vcp-SA asociados a dos casos de infección protésica articular recurrente.

Material y métodos: Se procesaron y analizaron las muestras clínicas (exudados de fistula/exudados de herida) de dos pacientes con infecciones de repetición y de larga evolución, de prótesis articular, sometidos a numerosos tratamientos quirúrgicos y antimicrobianos. Los aislados bacterianos se identificaron mediante tinción de Gram, catalasa, coagulasa en tubo, aglutinación de látex y DNasa, así como crecimiento en agar Columbia + 5% de sangre de cordero y en agar Chapman. Identificación molecular: presencia del gen *spa* mediante PCR. Métodos de susceptibilidad empleados: (i) Sistema Vitek II, (ii) microdilución en caldo (WIDER), (iii) Difusión con discos en MH agar y MH agar sangre. Evaluación de meticilín-resistencia: placa cromogénica-MRSA, aglutinación-MRSA, presencia del gen *mecA* mediante PCR. Se estudió el auxotrofismo para Timidina y Menadiona. Se realizó PFGE para el tipaje molecular (Interpretación según criterios de Tenover).

Resultados: Las vcp-SA crecieron en agar Columbia a las 48-72 h de incubación a 37 °C en aerobiosis, con un tamaño < 1 mm, pigmentación disminuida y ausencia de hemólisis. Las pruebas de catalasa, coagulasa en tubo (con lectura a las 4 y 24 h), aglutinación de látex y DNasa fueron positivas así como el crecimiento en agar Chapman. Todas fueron *spa* positivas. No se obtuvo crecimiento en MH ni en MH agar sangre. En microdilución en caldo los cinco aislados fueron sensibles a todos los antibióticos estudiados, incluida la oxacilina, mientras que en Vitek 2 se obtuvieron resultados irregulares. Las aglutinaciones-MRSA fueron positivas y en la placa-MRSA se observó escaso crecimiento a las 72 h de incubación en todos los aislados.

Cuatro aislados fueron *mecA* positivos y revelaron auxotrofismo para Timidina, mientras que el aislado *mecA* negativo lo presentó para Menadiona. PFGE: los aislados del paciente 1 mostraron el mismo patrón de bandas, mientras que el aislado del paciente 2 presentó un patrón diferente.

Conclusiones: Los métodos habituales de estudio de sensibilidad de las vcp-SA pueden dar resultados erróneos, lo que es particularmente importante en los casos de meticilín-resistencia, que podría detectarse mediante aglutinación de látex o PCR. Debido a su lenta velocidad de crecimiento no se puede descartar la resistencia a otros grupos de antibióticos.

053. VALORACIÓN DE LA UTILIZACIÓN DE CULTIVOS CROMOGÉNICOS PARA LA DETECCIÓN DE PACIENTES COLONIZADOS POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILIN RESISTENTE DENTRO DE UN SISTEMA DE VIGILANCIA ACTIVA

B. Castro, I. Montesinos, M. Lecuona, Y. Pedroso, M. Ramos, F. Guzmán y A. Sierra

Departamento de Microbiología y Medicina Preventiva. Hospital Universitario de Canarias.

Introducción y objetivos: El Sistema de Vigilancia Activa (SVA) es un programa que nos permite detectar pacientes portadores nasales de *Staphylococcus aureus* meticilin resistente (SAMR) en el momento del ingreso y consecuentemente evitar así una infección por este microorganismo multirresistente en el paciente y su diseminación en el hospital, siendo una herramienta muy útil en el control de las infecciones asociadas a cuidados sanitarios por SARM. El objetivo de este estudio ha sido evaluar la utilización de un medio cromogénico para la detección de pacientes colonizados por SARM inoculando las muestras nasales directamente en el medio y tras incubación en medios líquidos con cloruro sódico.

Material y métodos: En el Hospital Universitario de Canarias se realiza, dentro de un programa de SVA, la detección de pacientes colonizados por SARM a todos los pacientes en su ingreso hospitalario (exceptuando pacientes de los Servicios de Pediatría y Psiquiatría). En el presente estudio se evaluaron 10.000 muestras de frotis nasales correspondientes a pacientes del SVA. La muestra se sembró directamente en agar chromID™ MRSA (BioMérieux®) y se incubó a 37 °C realizando una lectura a las 24 y a las 48 horas. A su vez, cada muestra se incubó a 37 °C en caldo corazón cerebro (Brain Heart infusión Oxoid®) con 7% de cloruro sódico durante 24 horas tras las cuales se realizó una siembra en agar cromogénico procediéndose posteriormente de la misma forma que con los cultivos directos.

Resultados: De los 10.000 frotis nasales 349 (3,49%) fueron positivos para SAMR. De estos 349, 236 (67,62%) fueron diagnosticados dentro de las 48 h de incubación en agar cromogénico y 113 (32,57%) dentro de las 48 horas de incubación en agar cromogénico tras previa incubación en caldo salino. De los 236 pacientes detectados en el screening directo en agar cromogénico 146 (61,66%) fueron positivos a las 24 horas y 90 (38,14%) a las 48 horas. De los 113 detectados tras la incubación previa en caldo salino, 83 (73,45%) fueron detectados a las 24 horas y 30 (26,54%) a las 48 horas.

Conclusiones: En nuestro estudio podemos concluir que es conveniente realizar cultivo en medio cromogénico tras incubación en medio enriquecido con cloruro sódico ya que hemos podido detectar un 32% de pacientes colonizados por SAMR, los cuales no se hubieran detectado con una siembra directa en medio cromogénico, evitando así una posible infección por SARM y su diseminación en nuestro hospital.

054. IDENTIFICACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILINA RESISTENTES (SAMR) MECA NEGATIVOS

C. Potel¹, M. Álvarez^{1,2}, L. Constenla², F. Lago¹, S. Pérez¹ y V. Barbeito³

¹Servicio de Microbiología. ²Laboratorio de Investigación. Complejo Hospitalario Universitario de Vigo. ³Insuña. Pescanova. Vigo.

Introducción: Se han descrito otros mecanismos de resistencia a la meticilina independientes de la presencia del gen *mecA* tales como la hiperproducción de beta-lactamasa, mutaciones en las PBPs o hiperexpresión de alguna de ellas. En este trabajo hemos caracterizado once SAMR que carecen del gen *mecA*.

Material y métodos: Las cepas se aislaron entre los años 2005-08 a partir de heridas en pacientes comunitarios, que se sembraron en medios convencionales incluidos agar chromID MRSA (BioMérieux). La identificación y el antibiograma se realizaron mediante el sistema Vitek2 (BioMérieux). La resistencia a la oxacilina (OX) y cefoxitina (CX) mediante difusión en disco-placa siguiendo las normas CLSI. Además se añadió 10 µg/mL de ácido clavulánico (CLV) al disco de la OX. Las CMI de la OX, CX, cefuroxima (XM) y cefotaxima (CT) se estudiaron con Etest. Para la detección de la proteína PBP2A se empleó el latex Slidex MRSA Detection (BioMérieux). Mediante PCR se determinó la presencia del gen *mecA*. Todos los aislamientos se clasificaron mediante Spa typing.

Resultados: Todas las cepas crecieron en la placa chromID MRSA. El Vitek las identificó como SAMR. Todas fueron OX (R) y CX (S). El disco de OX + CLV no amplió el halo de inhibición respecto al de OX. Mediante Etest fueron resistentes a la OX ($\geq 4 \mu\text{g}/\text{mL}$), sensibles a la CX (2-6 µg/mL), XM y CT ($< 8 \mu\text{g}/\text{mL}$). El slidex MRSA fue negativo en los 11 aislamientos, así como la PCR del gen *mecA*. El Spa typing identificó tres clones t024, t018 y t002, relacionados con los clones epidémicos internacionales ST8, ST36 y ST5.

Conclusiones: 1. La relación de este fenotipo con clones pandémicos, aun siendo excepcional, debe ser identificada por el laboratorio de microbiología por sus repercusiones epidemiológicas. 2. La presencia de OX (R), CX (S) es sugestivo de este fenotipo, debiendo descartarse la hiperproducción de beta-lactamasa. 3. La OX (R) mediada por otros mecanismos distintos de la presencia de *mecA*, es un reto no resuelto en cuanto a la actividad en la clínica de otros beta-lactámicos. No obstante, el CLSI recomienda que los aislamientos "rara vez" de *S. aureus* OX $\geq 8 \mu\text{g}/\text{mL}$ *mecA* negativo deben considerarse OX (R).

055. ESTUDIO DE LOS GENES ICAA, ICAD Y LA SECUENCIA INSERCIÓN IS256 COMO MARCADORES GENÉTICOS DE INVASIVIDAD EN ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVOS EN PACIENTES SOMETIDOS A HEMODIÁLISIS

A. Rodríguez-Aranda¹, J.M. Alcázar², F. Sanz¹, F. García², J.J. Rodríguez-Otero¹ y F. Chaves¹

¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Nefrología. Unidad de Diálisis. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Introducción y objetivos: Los estafilococos coagulasa negativa (ECN) constituyen una importante causa de bacteriemia relacionada con el catéter (BRC). La coexpresión de los genes *icaA* e *icaD* se asocia a la síntesis completa del *biofilm*, constituyendo un posible marcador de infectividad. La secuencia de inserción IS256, también puede influir en este proceso. La importancia clínica de estos genes es incierta y controvertida. Ante este problema se estudió la posibilidad de que los genes *icaA*, *icaD* e IS256 pudieran discriminar entre cepas invasivas y meramente comensales.

Material y métodos: Se estudió la cohorte de pacientes en HD con catéter venoso central (CVC). Se seleccionaron los aislamientos de ECN correspondientes a dos tipos de pacientes: grupo 1) aislamientos de pacientes que desarrollaron BRC: 49 aislamientos en 16 pa-

cientes (29 aislamientos de hemocultivos (HC) y 20 de muestras de cultivos previos de vigilancia de colonización endoluminal de los CVC); grupo 2) aislamientos de pacientes en los que no se detectó BRC: 31 aislamientos de cultivos de vigilancia. Todos los aislamientos fueron identificados a nivel de especie y se determinó su sensibilidad antimicrobiana. Mediante PCR se amplificaron los genes *icaA*, *icaD* e IS256 y se comprobó su presencia por electroforesis.

Resultados: De los 84 aislamientos estudiados de ECN, *S. epidermidis* fue la especie mayoritaria (80%). El 70% de los aislamientos fueron resistentes a oxacilina, y de éstos, el 83% fueron resistentes al menos a tres antimicrobianos más (aminoglucósicos, macrólidos, lincosaminas, quinolonas o rifampicina). No se encontraron diferencias en cuanto al patrón de resistencias a los antimicrobianos en los dos grupos. Un 49% de los aislamientos del grupo 1 poseían los genes *icaA* e *icaD*, por 42% en los aislados del grupo 2 ($p = 0,54$). Dentro del grupo 1 la presencia de los genes *icaA* e *icaD* en las muestras de HC frente a las de colonización fue de 41% vs. 60% ($p = 0,2$). IS256, se detectó en un 49% de los aislamientos del grupo 1 vs. 58% en el grupo 2 ($p = 0,46$). Dentro del grupo 1 la presencia de IS256 fue más frecuente en los aislamientos de HC que en los de colonización (70% vs. 22%, $p < 0,01$).

Conclusiones: La presencia de genes *icaA*, *icaD* e IS256 entre los aislamientos de ECN en pacientes en HD no fue determinante para diferenciar entre los ECN causantes de BRC y los únicamente colonizadores. Probablemente la presencia de estos genes es muy frecuente entre las cepas de ECN presentes en el medio hospitalario.

056. ACTIVIDAD COMPARATIVA IN VITRO DE DALBAVANCINA Y VANCOMICINA, SOLAS Y ASOCIADAS A RIFAMPICINA, SOBRE BIOCOPAS DE STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS EN ACERO INOXIDABLE

M.C. Conejo¹, I. García¹, J. Rodríguez-Baño² y A. Pascual^{1,3}

¹Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla. Sevilla. ²Unidad de Enfermedades Infecciosas. ³Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Evaluar comparativamente la actividad *in vitro* de dalbavancina y vancomicina, solas y asociadas a rifampicina, frente a biocapas maduras de *Staphylococcus epidermidis* resistente a meticilina sobre acero inoxidable, utilizando un modelo dinámico (dispositivo de Robbins) y tiempos prolongados de exposición.

Material y métodos: Se ha utilizado un sistema de flujo continuo asociado a una multicámara con flujo laminar (dispositivo de Robbins) para formar biocapas de *S. epidermidis* resistente a meticilina (ATCC 35984; slime +) sobre acero inoxidable durante 96 horas a 37 °C (flujo: 40 mL/h). Una vez formada la biocapa bacteriana y utilizando el mismo sistema dinámico, se ha evaluado la actividad de dalbavancina (5 mg/L) y vancomicina (20 mg/L), solas y asociadas a 3 mg/L de rifampicina, durante 1, 2, 3 y 7 días. Para ello en cada tiempo se retiraron 3 discos de acero inoxidable de 8 mm de diámetro, que se lavaron y sonicaron con objeto de desprender las bacterias adheridas. El número de bacterias viables se determinó mediante dilución y recuento en agar.

Resultados: La exposición de la biocapa bacteriana a 5 mg/L de dalbavancina durante 7 días disminuyó en 1,8 logaritmos el número de bacterias viables comparado con el control sin antimicrobiano ($6,8 \times 10^5$ ufc/cm²; control $3,8 \times 10^7$ ufc/cm²). Con vancomicina (20 mg/L) la reducción observada fue de 0,6 logaritmos ($1,1 \times 10^7$ ufc/cm²). Con dalbavancina + rifampicina la reducción en el número de bacterias viables fue de 4,5 log comparada con dalbavancina sola ($2,4 \times 10$ vs. $6,8 \times 10^5$ ufc/cm²) y de 6,2 log comparada con el control ($2,4 \times 10$ vs. $3,8 \times 10^7$ ufc/cm²). La asociación vancomicina + rifampicina tan sólo redujo la viabilidad de las bacterias adheridas en 2,5 log, comparada con el control ($1,2 \times 10^5$ vs. $3,8 \times 10^7$ ufc/cm²).

Conclusiones: La actividad de dalbavancina frente a biocapas maduras de *S. epidermididis* en acero inoxidable fue superior a la de vancomicina. La asociación de rifampicina incrementó significativamente esta actividad.

057. DISEMINACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS HOMINIS RESISTENTE A LINEZOLID EN DOS HOSPITALES DE MALLORCA

C.I. Marinescu¹, E. Ruiz de Gopegui¹, P. Díaz², M. Garau², A. Socías³, C. Blanco⁴, A. Pareja⁵, M.C. Gallegos², J.L. Pérez¹ y A. Oliver¹

¹Servicio de Microbiología. ⁴Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Universitario Son Dureta. ²Servicio de Microbiología. ³Servicio de Medicina Intensiva. ⁵Unidad de Epidemiología y Control de Infecciones. Hospital Son Llātzer. Mallorca.

Objetivos: Estudio de sensibilidad y de epidemiología molecular de los aislados de *Staphylococcus hominis* resistentes al linezolid, detectados en pacientes ingresados en el Hospital Son Llātzer (HSLL) y el Hospital Universitario Son Dureta (HUSD). Estudio del mecanismo de resistencia al linezolid.

Material y métodos: En el periodo marzo 2008-enero 2009, se detectaron un total de 15 aislados de *S. hominis* resistentes al linezolid, que correspondían a 11 episodios infecciosos en 10 pacientes (un paciente tuvo dos bacteriemias por *S. hominis* en dos ingresos separados por 100 días). Ocho pacientes estaban ingresados en el HSLL (7 en UCI) y dos en HUSD (ambos en UCI). Las muestras fueron hemocultivos (8), líquido céfalorraquídeo (1), catéter (1), líquido articular (1) y exudados axilar (2) e inguinal (2). Nueve pacientes fueron tratados previamente con linezolid. La identificación de las cepas de *S. hominis* se realizó mediante Vitek GP y/o API ID 32 STAPH. Para el estudio de sensibilidad inicial se utilizó la tarjeta Vitek 559 y/o disco-placa. Posteriormente, se realizó E-test de linezolid, vancomicina, teicoplanina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, ciprofloxacino, cotrimoxazol y daptomicina. La relación clonal se estudió por electroforesis en campo pulsado (ECP), utilizando *Sma*I como enzima de restricción, en 9 cepas de *S. hominis* resistente a linezolid y en 3 cepas sensibles a este antibiótico como controles. Se efectuó PCR y secuenciación de un fragmento del gen ARNr 23S de una cepa de *S. hominis* sensible y otra resistente al linezolid.

Resultados: Los 15 aislados de *S. hominis* fueron resistentes al linezolid (CMI 96 ->256 µg/ml), teicoplanina (CMI > 256 µg/ml), oxacilina, ciprofloxacino y cotrimoxazol. La CMI a la vancomicina fue de 3-4 µg/ml. Todas ellas fueron sensibles a la eritromicina, gentamicina y daptomicina y presentaron sensibilidad intermedia a la clindamicina (CMI 0,75 µg/ml). La ECP mostró un patrón de bandas idéntico en todas las cepas resistentes. Mediante secuenciación se detectó la mutación G2576T en el aislado resistente.

Conclusiones: Se describe la diseminación en dos hospitales de un clon de *S. hominis* multirresistente, incluyendo el linezolid y la teicoplanina. El mecanismo de resistencia al linezolid se debe a la mutación G2576T del gen ARNr 23S, que si bien es la principal mutación encontrada en *S. aureus* y *S. epidermidis*, hasta donde llega nuestro conocimiento, esta es la primera descripción en *S. hominis*.

058. EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA DE STAPHYLOCOCCUS COAGULASA NEGATIVO EN UN HOSPITAL COMARCAL (2006-2008)

M.J. Gutiérrez, A. Morales, F.J. Mérida y M.J. Pérez

Servicio de Laboratorio. Sección Microbiología. Unidad de Gestión Clínica. Área Sanitaria Serranía de Málaga.

Introducción: En los últimos años han surgido nuevas circunstancias que hacen aconsejable llevar a cabo estudios de vigilancia de la situación en la resistencia a antimicrobianos de los *staphylococos coagulasa negativos* (ECN), entre las cuales se encuentra la de que

Tabla 1

	2006	2007	2008
Muestras			
Orina	18	14	32
Ex.heridas	20	20	23
Hemocultivos	25	21	32
Prótesis	5	4	7
Abceso	5	2	3
L. biológicos	1	4	4
Otros exudados	11	3	5
Catéter	10	12	4
Especies			
<i>S. epidermidis</i>	52	54	50
<i>S. capitis</i>	5	7	6
<i>S. hominis</i>	3	4	5
<i>S. lugdunensis</i>	5	1	8
<i>S. simulans</i>	2		
<i>S. schleiferi</i>	2	3	1
<i>S. auricularis</i>	1		2
<i>S. warneri</i>	5	5	1
<i>S. intermedius</i>	1	4	
<i>S. saprofiticus</i>	6	1 S. sciuri/SCN	13
<i>S. haemolyticus</i>		6	
Comunitario			
Nosocomial	37	32	43
Fármacos			
Eritromicina	43%	58,13%	63,60%
Clindamicina	20%	32,16%	43,20%
Gentamicina	20%	33,33%	44,60%
Rifampicina	3%	10,52%	9,68%
Cotrimoxazol	16%	24,56%	25,60%
Ciprofloxacino	32%	49,70%	50,89%
Vancomicina	1%	1%	1%
Oxacilina	60%	73,68%	62,62%
Penicilina	83%	92,98%	98,61%

pueden constituir reservorio de genes para el futuro desarrollo de resistencia en *S.aureus*, así como la de presentar sensibilidad disminuida a glicopeptidos.

Objetivo: Realizamos el siguiente estudio epidemiológico (origen intra y extrahospitalario, tipo de muestra, patrón de sensibilidad, valor clínico versus contaminación, etc), para conocer la situación actual en nuestro hospital durante un periodo de tres años (2006-2008).

Material y métodos: Las muestras clínicas se procesaron siguiendo protocolos microbiológicos. Todos los aislados se identificaron tras su recepción y se determinó la sensibilidad a antimicrobianos por el método de microdilución en caldo (Sistema MicroScan, Dade Behring-Siemens). Todos los aislamientos presentaron valor clínico (> 3 muestras positivas con aislamiento puro). Los antibióticos ensayados fueron: penicilina, oxacilina, eritromicina, clindamicina, gentamicina, rifampicina, cotrimoxazol, cloranfenicol, ciprofloxacino y vancomicina.

Resultados: Ver tabla 1.

Conclusiones: 1. El aumento progresivo de la resistencia a penicilina y a oxacilina (62%/98%), junto con la resistencia a eritromicina, clindamicina, gentamicina y ciprofloxacino. 2. Los estudios de prevalencia constituyen un excelente método para determinar la situación de resistencia en una población, a fin de conocer los patrones de resistencia más habituales que permitan instaurar tratamientos empíricos adecuados.

Sesión 5:

Pseudomonas aeruginosa: epidemiología y clínica

059. FACTORES DE RIESGO RELACIONADOS CON LA PRESENCIA DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRESISTENTE (PARM). IMPACTO DEL USO DE ANTIBIÓTICOS. DOBLE CASO CONTROL

M. Montero¹, M. Sala², M. Riu², F. Belvis², J.P. Horcajada¹, I. Sorli¹, F. Álvarez-Lerma³, S. Grau⁴, M. Salvado⁵, X. Castells² y H. Knobel¹

¹Servei de Medicina Interna e Infecciosas. Hospital del Mar. ²Servei d'Avaluació i Epidemiologia Clínica. IMIM. Hospital del Mar. CIBERESP.

³Unitat de Cures Intensives. Hospital del Mar. ⁴Servei de Farmacia. Hospital del Mar. ⁵Servei de Microbiología. Laboratori de Referència de Catalunya. Hospital del Mar. Barcelona.

Objetivo: Conocer los factores de riesgo relacionados con la presencia de PARM (*Pseudomonas aeruginosa* resistente a todos los antimicrobianos, excepto colistina y amikacina).

Material y métodos: Estudio retrospectivo doble caso-control. Definición de caso: Pacientes con cultivo incidente con PAMR entre 2001-2006. Se definió control 1: pacientes con *P. aeruginosa* multi-sensible (PAS) y control 2: pacientes ingresados en el mismo periodo de tiempo con gravedad similar y sin aislamiento de *P. aeruginosa* (PAN). Todos los casos de *P. aeruginosa* incluidos fueron de adquisición nosocomial. Se realizó análisis univariado y análisis de regresión logística para evaluar los factores predictores de aislamiento de PARM, diseñándose dos modelos, uno usando PAS y PARM y otro comparando PARM con PAN.

Resultados: Durante el período de estudio se identificaron 1.403 casos de aislamiento de PA, 532 (37,9%) fueron PAS y 345 (24,6 %) PARM. Se incluyeron 690 pacientes PAN. Con relación a las características clínicas epidemiológicas, no se encontraron diferencias vinculadas al antecedente de co-morbilidad a excepción de EPOC que fue mayor en los pacientes con PARM. El antecedente de ventilación mecánica, hemodiálisis y fibrobroncoscopía también fue mas frecuente en este tipo de paciente. El uso previo de antibiótico se asoció significativamente a la presencia de multi-resistencia. Recibieron antibióticos anti-PA 11,3%, 60,7% ($P < 0,01$), y 34,8% de los pacientes PAN, PARM y PAS respectivamente. En el análisis de regresión logística al comparar la presencia de PARM con PAN los factores de riesgo asociados fueron: sexo masculino (OR = 1,6; IC 95%: 1,2-2,4), más de tres hospitalizaciones (OR = 3,5; 2,3-5,3), presión de colonización (OR = 3,5; 1,9-6,1), EPOC (OR = 2,02; 1,3-2,9), índice de gravedad (4,3; 2,8-6,5), uso previo de quinolonas (OR = 1,8; 1,3-2,5) y carbapenémicos (OR = 2,2; 1,3-3,8). En el modelo que comparó PARM con PAS el uso de quinolonas se asoció con un mayor riesgo de multi-resistencia (OR = 15,2; 8,7-26,5), desapareciendo EPOC, y manteniéndose el resto de factores sin cambios respecto al modelo previo.

Conclusiones: Los factores implicados en nuestro centro con la adquisición de PARM fueron severidad del paciente, ingresos previos, la presión antibiótica de carbapenémicos y quinolonas y la transmisión cruzada. Por otro lado la utilización de la metodología de doble caso-control permite modular el grado de implicación de los antibióticos como factor de riesgo.