

pecies del género *Proteae* presentan sensibilidad disminuida y *Pseudomonas aeruginosa* es intrínsecamente resistente. La tasa de sobreinfección en tratamientos con tigeciclina es del 6,7%, pero no se especifican focos ni etiología.

**Objetivo:** Analizar las sobreinfecciones y colonizaciones por *P. aeruginosa* durante el tratamiento con tigeciclina.

**Materiales y métodos:** Estudio observacional de todos los pacientes tratados con tigeciclina (50 mg/12 h) entre Noviembre 2007-Octubre 2008 y seguidos hasta el alta o exitus. Criterios de inclusión: pacientes con cultivo de control o por otras causas, durante el tratamiento con tigeciclina. Criterios de exclusión: pacientes sin cultivo durante el tratamiento o con aislamiento de *P. aeruginosa* concomitante al inicio de éste. Se analizan: tiempo de tratamiento, infección/colonización y aislamientos durante el tratamiento y muestra, antibióticos concomitantes, curación clínica/microbiológica y evolución. Los casos con sobreinfección por *P. aeruginosa* fueron seguidos hasta su resolución.

**Resultados:** Se incluyeron 51 pacientes. Edad: Md 53 años (23, 85). Indicaciones de tigeciclina: neumonía nosocomial (N = 23, 45%), infección intraabdominal (N = 15, 29%) e infección de piel y partes blandas (N = 13, 26%). Cultivos durante el seguimiento: negativos 28 casos (55%), positivos 13 (25,5%), excluidos 10 (19,5%) por no cultivos durante el tratamiento (8) o aislamiento concomitante de *P. aeruginosa* (2). Sobreinfección presentaron 12 casos (24%): 7 (14%) *P. aeruginosa* (3 neumonías nosocomiales, 2 infecciones intraabdominales y 2 infecciones de piel y partes blandas), 1 *Enterobacter cloacae*, 1 *Morganella morganii*, 1 *Proteus mirabilis*, 1 *Providencia stuartii* y 1 *Enterococcus faecalis*. Hubo una colonización por *P. aeruginosa*. Las sobreinfecciones por *P. aeruginosa* se diagnosticaron a los 10 días de tratamiento (7, 26), 5 tuvieron curación clínica y microbiológica con otros antibióticos, 1 falleció por la enfermedad de base y 1 por la sobreinfección intrabdominal.

**Conclusiones:** La tasa de sobreinfección observada durante el tratamiento con tigeciclina es importante y mayor de la comunicada previamente. *Pseudomonas aeruginosa* es el agente más frecuente (tasa de sobreinfección 14%) y responsable del 58% de todas las sobreinfecciones.

#### 075. PSEUDOMONAS MULTIRRESISTENTE EN PACIENTES CON EPOC ATENDIDOS EN UNA UNIDAD DE HOSPITAL DE DÍA DE NEUMOLOGÍA. IMPACTO DEL TRATAMIENTO CON COLISTINA NEBULIZADA

F. Sánchez\*, P. Ausín, R. Güerri, G. Vallecillo, C. Segura y M. Salvadó

Servicios de M. Interna y Enfermedades Infecciosas, Neumología y Microbiología. Hospital del Mar. Laboratorio de Referencia de Cataluña. Barcelona.

**Introducción/Objetivo:** *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (PAMR) es un patógeno frecuente en pacientes con EPOC avanzada. Cuando produce enfermedad invasora se asocia a una elevada mortalidad. El objetivo de este estudio es analizar el impacto inicial del tratamiento con colistina nebulizada sobre la mortalidad atribuible a las complicaciones de la sepsis bronquial crónica por PAMR en pacientes con EPOC evolucionada atendidos en el Hospital de Día de Neumología de un hospital universitario de 455 camas.

**Material y métodos:** Estudio prospectivo (2005-2008) de todos los pacientes con sepsis bronquial por PAMR. Para el propósito de este estudio, se consideraron multirresistentes las cepas de *P. aeruginosa* que mostraron *in vitro* CMLs por encima de los puntos de corte del laboratorio de referencia para todos los fármacos antipseudomónicos, excepto colistina. El diagnóstico de infección broncopulmonar invasora se estableció a partir del aislamiento de PAMR en una muestra respiratoria obtenida por broncoscopia, hemocultivo, o, al menos 2 muestras de esputo, en un paciente con cuadro clínico com-

patible con agudización infecciosa de la EPOC. Se consideró mortalidad atribuible a PAMR el fallecimiento durante el episodio de exacerbación infecciosa. Durante 2007 se indicó a los pacientes crónicamente colonizados por PAMR el uso de colistina nebulizada.

**Resultados:** Durante el período de estudio se identificaron 72 pacientes (68 hombres), edad media 66 años (rango 34-88), con sepsis bronquial crónica por PAMR: 19 en 2005, 23 en 2006, 14 en 2007 y 16 en 2008. El índice de comorbilidad de Charlson fue 3,53 (rango 2-7), todos presentaban EPOC GOLD III o superior. La mortalidad atribuible PAMR fue del 95% de los pacientes diagnosticados en 2005, del 86% de los diagnosticados en 2006, del 74% de los diagnosticados en 2007 y del 62% de los diagnosticados en 2008. Se identificó una cepa de PAMR resistente a colistina en 2006 en un paciente que no había recibido el fármaco previamente, y dos en 2008, en pacientes distintos, previamente tratados con colistina.

**Conclusiones:** PAMR es un patógeno que causa una elevada mortalidad en pacientes EPOC evolucionados, crónicamente colonizados por este microorganismo. La colistina nebulizada parece reducir la mortalidad por enfermedad invasora por PAMR en este grupo de pacientes, pero hay que tener en cuenta que existen cepas de PAMR resistentes también a colistina en pacientes con y sin antecedentes de haber recibido el fármaco previamente.

#### Sesión 6:

*Enterobacterias multirresistentes*

#### 076. EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROGRAMA DE CONTROL EXTERNO DE CALIDAD SEIMC EN LA DETECCIÓN DE BLEE

R. Guna<sup>1,2</sup>, N. Orta<sup>1,3</sup>, M. Ovies<sup>1</sup>, C. Gimeno<sup>1,2,5</sup> y J.L. Pérez<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Programa de Control de Calidad SEIMC. <sup>2</sup>Servicio de Microbiología. Hospital General de Valencia. <sup>3</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Francesc de Borja de Gandía. <sup>4</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca. <sup>5</sup>Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina de Valencia.

**Introducción:** Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) representan, hoy en día, un grave problema de multirresistencia en la práctica clínica. Su detección rápida en cualquier situación constituye uno de los retos principales del diagnóstico microbiológico de calidad.

**Objetivos:** Analizar los resultados obtenidos en 7 envíos diferentes del control de calidad de bacteriología, tres trimestrales y cuatro mensuales, estudiando el porcentaje de participación, de acierto en la identificación y el de los centros que informan específicamente la producción de BLEE, característica común en todos ellos.

**Material y métodos:** Desde el año 1997 al año 2008 se realizó un total de 3 envíos del control de bacteriología trimestral (B-1/97, B-3/99 y B-3/03) a una media de 290 centros inscritos y 4 del de bacteriología mensual (BX-Abril-05, BX-Marzo-06, BX-Mayo-07 y BX-Abril-08) a una media de 170 centros inscritos; en todos ellos se les solicitaba la identificación de la bacteria remitida y se les preguntaba si ésta presentaba alguna característica fenotípica especial digna de mención. En todos estos controles se remitieron cepas de enterobacterias productoras de BLEE.

**Resultados:** Los porcentajes de participación fueron bastante elevados, situándose casi todos entre el 90 y el 95%. Los laboratorios también demostraron su capacitación (97,1-100% de acierto) para llevar a cabo la identificación de especie (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*). En la detección de BLEE (objetivo principal) los resultados

Referencia	Identificación	% Participación	% Acierto	% Detectan BLEE
B-1/97	<i>K. pneumoniae</i>	76,8	98,9	24,2
B-3/99	<i>K. pneumoniae</i>	91,3	97,1	55
B-3/03	<i>E. coli</i>	95,5	97,1	77,3
BX-Abril-05	<i>K. pneumoniae</i>	89,9	98,6	89,4
BX-Marzo-06	<i>E. coli</i>	93,1	96,9	75,6
BX-Mayo-07	<i>E. coli</i>	93,9	100	92,3
BX-Abril-08	<i>K. pneumoniae</i>	94,6	98,3	93,2

son variables, aunque siguen una clara tendencia al alza a lo largo de los años: desde el 24% en 1997 al 93% en 2008.

**Conclusiones:** 1. La capacidad de los centros participantes para identificar correctamente las cepas bacterianas enviadas es muy elevada, cosa que no es de extrañar dada la escasa dificultad diagnóstica que presentaban las bacterias enviadas. 2. La comparación entre los diferentes controles revela que la detección de BLEE se ha convertido en un estándar diagnóstico y que no presenta ninguna dificultad para los laboratorios de nuestro país. 3. El Programa de Control de Calidad pone de manifiesto que los participantes están capacitados para detectar esta característica en cualquier situación clínica.

#### 077. ENTEROBACTERIAS CON FENOTIPO BLEE EN EL ÁREA SANITARIA DEL HOSPITAL DE MANZANARES. ESTUDIO DE 4 AÑOS (2004-2008)

A. Sánchez-Maroto y S. Illescas

Laboratorio de Microbiología. Hospital Virgen de Altagracia, Manzanares. Ciudad Real.

**Introducción:** El aumento de enterobacterias productoras de BLEE ocurre tanto a nivel hospitalario como comunitario y constituye un importante problema sanitario en el tratamiento de las infecciones causadas por estos microorganismos.

**Objetivos:** Conocer la incidencia y origen de las enterobacterias productoras de BLEE aisladas en muestras clínicas en nuestro hospital.

**Material y métodos:** Se realizó un estudio retrospectivo de los aislamientos con significación clínica de enterobacterias durante el período comprendido entre enero de 2004 a diciembre de 2008. Para la identificación y estudio de sensibilidad se utilizó el sistema WIDER® (F<sup>co</sup> Soria Melguizo). Las cepas compatibles con BLEE se confirmaron mediante doble difusión con discos de cefotaxima (30 µg), ceftazidima (30 µg) y amoxicilina-clavulánico (20/10 µg).

**Resultados:** Se aislaron 3.632 cepas de enterobacterias, 189 (5,2%) cumplían criterios BLEE; 22 en 2004 (2,8% del total anual), 26 en 2005 (3,6%), 29 en 2006 (3,91%), 60 en 2007 (9,1%) y 52 en 2008 (7,24%).

El porcentaje encontrado de las enterobacterias con BLEE de forma global fue: 4,03% en la comunidad, 11,11% en el hospital y 28,57% en una residencia de ancianos. Se encontraron 174 cepas de *E. coli* (90,15%), 14 de *Klebsiella* spp. (7,25%) (13 *Klebsiella pneumoniae* y 1 *Klebsiella oxytoca*) y 1 de *Salmonella typhimurium* (0,51%) portadoras de BLEE. Los aislados portadores de BLEE procedían un 63,49% de origen comunitario, 11,11% de origen hospitalario y 25,39% de una residencia de la tercera edad. El origen de los aislados con fenotipo BLEE fue el siguiente: 82,38% orinas, 6,21% hemocultivos, 4,66% heridas, 0,51% heces y 6,21% otros orígenes.

**Conclusiones:** El aislamiento de enterobacterias productoras de BLEE en el área sanitaria del Hospital de Manzanares ha aumentado de forma significativa durante el período de estudio. La infección/colonización urinaria de adquisición comunitaria es el origen más frecuente de enterobacterias productoras de BLEE.

#### 078. EVOLUCIÓN DE LAS CEPAS DE ESCHERICHIA COLI PORTADORAS DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO AISLADAS EN ENFERMOS CON INFECCIÓN URINARIA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD. ESTUDIO MULTICÉNTRICO EN CASTILLA-LA MANCHA

D. Tena<sup>1</sup>, A. González-Praetorius<sup>1</sup>, J.C. González<sup>2</sup>, E. Heredero<sup>3</sup>, S. Illescas<sup>4</sup>, C. Sáinz de Baranda<sup>5</sup> y G. Seseña<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Sección de Microbiología. Hospital Universitario de Guadalajara.

<sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología. Hospital General de Ciudad Real.

<sup>3</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Virgen de la Salud de Toledo.

<sup>4</sup>Laboratorio de Microbiología. Hospital Virgen de Altagracia.

Manzanares. Ciudad Real. <sup>5</sup>Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Albacete. <sup>6</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Virgen de la Luz. Cuenca.

**Objetivos:** Conocer la evolución de las cepas de *Escherichia coli* portadoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas en enfermos con infección urinaria adquirida en la comunidad en Castilla-La Mancha.

**Material y métodos:** Estudio descriptivo de carácter retrospectivo que abarcó desde enero de 2003 hasta diciembre de 2007. Se analizó la frecuencia de las cepas de *E. coli* portadoras de BLEE procedentes de urocultivos remitidos desde los Centros de Atención Primaria dependientes de 6 hospitales de Castilla-La Mancha. El estudio se coordinó a través de la Sociedad de Microbiología Clínica de Castilla-La Mancha (SOMICCAM).

**Resultados:** Durante el período de estudio se analizaron 33.651 cepas de *E. coli*. El 3,2% de las cepas fueron portadoras de BLEE. Globalmente, se observó un incremento significativo de la frecuencia de cepas de *E. coli* portadoras de BLEE, oscilando desde el 1,9% en el año 2003 hasta el 4,9% en el año 2007 ( $\chi^2$  TL = 143,6, p < 0,001). Este incremento se observó de forma significativa en todas las provincias excepto en Ciudad Real.

**Conclusiones:** La frecuencia de *E. coli* portador de BLEE en infecciones urinarias adquiridas en la comunidad está aumentando en Castilla-La Mancha. Estos resultados confirman la necesidad de realizar un control adecuado de la política de antibióticos en Atención Primaria. Sería necesario llevar a cabo futuros estudios de carácter prospectivo para confirmar los resultados obtenidos en el presente trabajo.

#### 079. ENTEROBACTERIAS PORTADORAS DE BLEE AISLADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS DE ACUERDO CON EL ÁREA DE PROCEDENCIA DEL PACIENTE (HOSPITAL O ATENCIÓN PRIMARIA)

M.J. Moreno, T. Alarcón, D. Domingo, S. Agudo, M.C. Martínez y M. López-Brea

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

**Objetivo:** Estudiar los microorganismos portadores de Beta-lactamasa de espectro extendido (BLEE) aislados de muestras clínicas en distintas áreas hospitalarias (pacientes ingresados (HI), de consultas (HC), de urgencias (UR) y en Atención Primaria (AP).

**Material y métodos:** Estudio retrospectivo desde el 1 de enero al 31 de diciembre del 2008, de 5266 cepas de las cuales 388 eran portadoras de BLEE. Las muestras se cultivaron de acuerdo con los procedimientos microbiológicos convencionales. La identificación y sensibilidad antimicrobiana se realizó utilizando el sistema comercial de microdilución, Microscan, Siemens. La producción de BLEE se confirmó mediante el Test de sinergia de doble disco con amoxicilina-clavulánico y cefalosporinas de 3.ª generación, E-test y el sistema comercial de paneles de CMI (Panel NM31) (MicroScan), se utilizaron las recomendaciones y los puntos de corte del CLSI.

**Resultados:** Se aislaron un total de 5.266 enterobacterias de las que 388 fueron portadoras de BLEE (7,4%). 4.105 eran *Escherichia coli* y

322 presentaban BLEE (7,8%), siendo más frecuente en HI (93 de 566, 16,4%), seguido de HC (36 de 487, 7,4%), de UR (52 de 720, 7,2%) y AP (141 de 2.332, 6,1%). *Klebsiella pneumoniae* fue la 2.<sup>a</sup> en frecuencia con 665 aislados y 59 con BLEE (8,9%) más frecuente en HI (33 de 157, 21%), seguido de UR (12 de 80, 15%), de HC (7 de 78, 9%) y de AP (7 de 350, 2%). En tercer lugar en frecuencia fue *Enterobacter* spp. con 275 aislados y 7 con BLEE (2,5%) siendo más frecuente en el área de UR (1 de 24, 4,2%), seguido de HI (4 de 157, 2,5%), de HC (1 de 43, 2,3%) y AP (1 de 51, 1,9%).

Se aislaron otras enterobacterias portadoras de BLEE pero no en todas las áreas: una cepa BLEE + del total de 116 *Morganella morganii* aisladas (0,56%) (de HI), una *Kluyvera* spp. que era BLEE + (de AP), 2 *Proteus vulgaris* con BLEE de los 25 aislados (8%) uno en HI y otro en AP. 3 *Serratia marcescens* con BLEE de los 79 aislados (3,79%) (1 en UR y 2 en HI).

**Conclusiones:** Hay un claro predominio de aislados de *E. coli* con BLEE y de *K. pneumoniae* con BLEE en pacientes ingresados frente a las áreas de urgencias, consultas y Atención primaria, probablemente debido a la mayor presión antimicrobiana a la que están sometidos o a la transmisión entre pacientes.

#### 080. EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN ENTEROBACTERIAS: VARIACIÓN DEL PATRÓN DE SENSIBILIDAD Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA EN CEPAS PRODUCTORAS DE BETA-LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

M. Íñigo<sup>1</sup>, M. Fernández-Alonso<sup>1</sup>, A. Aguinaga<sup>1</sup>, A. Pérez-García<sup>1</sup>, M.E. Portillo<sup>1</sup>, A. Alonso-Arribas<sup>1</sup>, F. Guillén-Morra<sup>2</sup> y J. Leiva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología. <sup>2</sup>Unidad de Medicina Preventiva. Clínica Universitaria de Navarra.

**Introducción:** La presión antibiótica ha conducido a un considerable aumento de la tasa de resistencias de las bacterias. La producción de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) presenta especial trascendencia por sus repercusiones sobre la morbilidad, mortalidad, aspectos económicos y política antibiótica.

**Objetivos:** Analizar la variación del patrón de sensibilidad de las principales enterobacterias aisladas en nuestro hospital y comparar la evolución de su concentración mínima inhibitoria (CMI) en las productoras de BLEE.

**Material y métodos:** Se llevó a cabo un estudio retrospectivo en la Clínica Universidad de Navarra durante el periodo enero 2003-diciembre 2008. La identificación y estudios de sensibilidad se realizaron mediante el sistema automatizado VITEK-2 (BioMérieux), y la confirmación del mecanismo de resistencia mediante técnicas de disco-placa y E-test (ceftazidima y ceftriaxona solas y en presencia de ácido clavulánico). Se recogió el patrón de sensibilidad de las principales enterobacterias aisladas (*E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis*) frente a  $\beta$ -lactámicos, quinolonas, aminoglucósidos, nitrofurantoína (FUR), fosfomicina y trimetoprim-sulfametoxazol (SXT). También se recogió la CMI para estos antibióticos de las cepas resistentes a cefotaxima (CTX) y del total de los aislamientos clínicos obtenidos.

**Resultados:** Dentro de la totalidad de los aislamientos clínicos, se observa un aumento de resistencia de las cepas de *P. mirabilis* y *E. coli* frente a los antibióticos SXT y ciprofloxacino (CIP), de *E. cloacae* frente a SXT y gentamicina, y de *K. pneumoniae* frente a CIP y FUR. La proporción de cepas productoras de BLEE se ha mantenido en *E. coli* (7-8%), *P. mirabilis* y *E. cloacae* (0,1%), y ha aumentado en *K. pneumoniae* (1% a 4,5%). En las cepas de *E. coli* BLEE se observa un desplazamiento en la proporción de cepas de elevada CMI para los siguientes antibióticos: cefuroxima (26%), CTX (32%), cefepime (21% CMI > 4), quinolonas (10-20%) y aminoglucósidos (20%). Se mantiene en ellos una baja tasa de resistencia a carbapenemes (CMI<sub>90</sub> < 0,25  $\mu$ g/ml). Menos de 20% de las cepas presentan CMI < 0,5  $\mu$ g/ml para CTX y un 30-40% de las cepas CMI < 0,5  $\mu$ g/ml para ceftazidima.

	Resistencia %						
	Ci	Te	SXT	Gm	Ni	Fo	Ti
SHV	81	71	33	0	18	0	0
SHV y TEM-1	75	80	62	0	33	0	0
SHV y CTX-M	50	75	50	25	0	0	0
SHV, CTX-M y TEM-1	100	80	60	60	20	20	0
Total 32 cepas	78	74	52	12,5	21,8	3	0

**Conclusiones:** La resistencia a quinolonas y SXT ha aumentado en *E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *P. mirabilis*. La proporción de cepas productoras de BLEE se ha mantenido estable a lo largo de este periodo. Sin embargo el nivel de resistencia ha aumentado en *E. coli* BLEE.

#### 081. ESCHERICHIA COLI PRODUCTORES DE BLEE TIPO SHV: RESISTENCIAS ASOCIADAS

C. Rodríguez-Avial, I. Rodríguez-Avial, E. Hernández, E. Culebras y J. Picazo

Servicio de Microbiología. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

**Introducción:** La producción de betalactamasas de espectro extendido, BLEEs, se asocia frecuentemente con un fenotipo multiresistente que limita las opciones terapéuticas. El objetivo de este trabajo fue analizar los fenotipos de resistencia encontrados en los *E. coli* productores de BLEE tipo SHV aislados en nuestro hospital, procedentes de urocultivos.

**Métodos:** 189 aislados de *E. coli* productores de BLEEs. Se estudió la sensibilidad a 12 antibióticos betalactámicos y a 7 de otras familias por dilución en agar siguiendo las directrices del CLSI. Se determinó el pl de los extractos crudos enzimáticos. La amplificación de *bla* TEM, -SHV y -CTX-M se llevó a cabo por PCR y se secuenciaron 4 productos de TEM y 2 de SHV. La relación clonal se determinó por ERIC PCR.

**Resultados:** 32 aislados, no relacionados genéticamente, amplificaron para SHV, de los cuales 12 lo hicieron también con *bla* TEM, 4 con *bla* CTX-M y 5 con ambos. Las 4 secuencias de TEM (pl 5,4) correspondieron a TEM-1, asumimos que las restantes, con igual pl, también lo son. Las 2 secuencias de SHV correspondieron a SHV-12. Los resultados del estudio de sensibilidad

a ciprofloxacino Ci, tetraciclina Te, cotrimoxazol SXT, gentamicina Gm, nitrofurantoína Ni, fosfomicina Fo y tigeciclina Ti, figuran en la siguiente tabla.

**Conclusiones:** Los porcentajes de resistencia globales son especialmente elevados frente a ciprofloxacino, tetraciclina y SXT. No hay resistencia a tigeciclina. Es muy baja la resistencia a fosfomicina. Hay una tendencia a la acumulación de resistencias en las cepas, esto es especialmente evidente en el caso de gentamicina. Continuar con el estudio de los genes implicados, estudiar la transferencia de estas resistencias por conjugación, y su posible localización en integrones nos ayudaría a comprender la complejidad de las asociaciones que llevan a la multiresistencia.

#### 082. ACTIVIDAD IN VITRO DE TIGECICLINA FRENTE AISLADOS CLÍNICOS PORTADORES DE BLEE

J. Alcoba, M. Lara, M.P. Fernández, I. Hernández y O. Díez

Unidad de Microbiología. Hospital Universitario Ntra. Sra. de Candelaria.

**Introducción y objetivos:** En los últimos años venimos asistiendo a un aumento progresivo de los aislamientos de enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) con la consiguiente dificultad para el manejo de los pacientes portadores de las mismas. La tigeciclina es el primer miembro de una nueva clase de

antibióticos, las gliciliclinas. Presenta un amplio espectro antibacteriano, incluyendo bacterias productoras de BLEE y enterobacterias con hiperproducción de AmpC. El objeto de este estudio ha sido conocer la sensibilidad a tigeciclina en aislamientos clínicos de *E. coli*, y otras especies de diferentes géneros *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter*, todas ellas productoras de BLEE.

**Material y métodos:** Realizamos un estudio retrospectivo durante un periodo de tres años a partir de las muestras remitidas a nuestro laboratorio. Como método de identificación y sensibilidad se utilizó el sistema automatizado Vitek 2 (bioMérieux®, Francia). La producción de BLEE fue confirmada mediante métodos de difusión en disco y E-test (Izasa), siguiendo siempre las normas de la CLSI. La CMI de tigeciclina se determinó con Etest (ABBIODISK®, Suecia) y se utilizaron los criterios sugeridos por la FDA y el EUCAST.

**Resultados:** Se estudiaron 165 aislados (75 *E. coli*; 56 *K. pneumoniae*; 4 *K. oxytoca*; 12 *E. aerogenes*; 6 *E. cloacae*; 2 *C. freundii*; 1 *C. koseri*; 9 cepas de la familia Proteaceae) productoras de BLEE. Tigeciclina fue activa frente al 97,3% de los 75 aislados de *E. coli* usando los puntos de corte de la FDA (MIC  $\leq 2$ ). Siguiendo los criterios del EUCAST (MIC  $\leq 1$ ), 94,6% de los aislados fue sensible. Para *Klebsiella* spp. los resultados fueron 95 y 78,3% respectivamente. Para *Enterobacter* spp. la tigeciclina fue activa frente al 83,3% de los aislados, sin diferencias en función de los puntos de corte que consideremos. Todas las especies de la familia Proteaceae que han sido analizadas son resistentes.

**Conclusiones:** 1. La tigeciclina constituye una buena alternativa para el tratamiento de pacientes hospitalizados, cuando estén implicados organismos productores de BLEE. 2. La falta de concordancia entre los puntos de corte sugeridos por FDA y EUCAST, hace que el porcentaje de cepas sensible difiera de manera considerable para *Klebsiella* spp., lo cual no se observa para el resto de las especies analizadas. 3. A la luz de los resultados obtenidos, la tigeciclina no debería usarse cuando el microorganismo implicado en el proceso infeccioso sea un miembro de la familia Proteaceae.

### 083. DISMINUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *E. COLI* PRODUCTOR DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) PROCEDENTE DE INFECCIONES URINARIAS COMUNITARIAS

B. Orden, R. Martínez-Ruiz y R. Millán

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda. CEP Argüelles. Madrid.

**Introducción y objetivos:** Estudio retrospectivo, descriptivo, diseñado para conocer la evolución de la incidencia y los patrones de sensibilidad de cepas de *E. coli*, productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs), aisladas de infecciones urinarias comunitarias, comparando los aislamientos de 2008 con 2004.

**Material y métodos:** Se analizaron retrospectivamente todos los urocultivos procesados durante los años 2004 y 2008 procedentes de los 27 Centros de Salud del Área 6 de Madrid. La identificación y sensibilidad antibiótica de *E. coli* se realizó con el sistema Wider (Soria Melguizo, SA) adoptándose los métodos y criterios del CLSI (2008). Se consideró únicamente un aislamiento por paciente y año. Se evaluó la sensibilidad de aminoglucósidos, quinolonas, nitrofurantoína, fosfomicina, cotrimoxazol, cefoxitina y amoxicilina/clavulánico.

**Resultados:** En el año 2004 se procesaron 32.633 urocultivos, de los que 4.422 (13,5%) fueron considerados como positivos. Se aislaron 3.006 cepas de *E. coli*, de ellas 52 (1,7%) fueron productoras de BLEEs. En el año 2008 se procesaron 37.269 urocultivos, de éstos, 5.811 fueron informados como positivos, con aislamiento de *E. coli* en 4.064 de ellos. Doscientas veintinueve cepas de *E. coli* (5,6%) fueron productoras de BLEEs. El porcentaje de urocultivos positivos y de *E. coli* BLEE sufrió un incremento significativo en 2008 con respecto a 2004;  $p \leq 0,00001$  en ambos casos.

No existieron diferencias significativas respecto a la edad y el sexo de los pacientes con aislamiento de *E. coli* BLEE del 2008 respecto a los de 2004.

Los porcentajes de sensibilidad de *E. coli* BLEE durante 2004 y 2008 fueron, respectivamente: gentamicina 84,6 vs. 78; tobramicina 80,8 vs. 34,5 ( $p \leq 0,001$ ); amikacina 92,3 vs. 75,5 ( $p \leq 0,001$ ); ácido nalidixico 9,6 vs. 8,7; ciprofloxacino 32,7 vs. 13,5 ( $p \leq 0,001$ ); fosfomicina 98,1 vs. 86 ( $p \leq 0,01$ ); nitrofurantoína 96,1 vs. 96,9; cotrimoxazol 36,5 vs. 26,2; cefoxitina 100 vs. 94,3 y amoxicilina/clavulánico 92,3 vs. 43,2 ( $p \leq 0,001$ ). Todas las cepas fueron sensibles a imipenem.

**Conclusiones:** Con una diferencia de 4 años, el porcentaje de *E. coli* BLEE aislado de infecciones urinarias comunitarias ha sufrido un incremento significativo, pasando de 1,7% a 5,6%, sin modificaciones significativas en el aislamiento respecto a grupos de edad y sexo. La sensibilidad antimicrobiana de estas bacterias resistentes también disminuyó de manera significativa con tobramicina, amikacina, ciprofloxacino, fosfomicina y amoxicilina/clavulánico.

### 084. ACTIVIDAD DE ANTIMICROBIANOS DE USO URINARIO FRENTE A AISLAMIENTOS URINARIOS DE *E. COLI* PRODUCTORES DE BETALACTAMASAS DE TIPO AMPC Y BLEE

S. Vega, M. Fernández, M.I. García y J.L. Muñoz

Departamento de Microbiología. Hospital Universitario de Salamanca.

**Introducción:** La presencia creciente de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y de cefalosporinas de tipo AmpC en patógenos urinarios, está afectando a la utilidad de los beta-lactámicos en el tratamiento de ITUs. Al tiempo, la inclusión de los genes que codifican estas enzimas en elementos genéticos móviles que codifican también resistencia a otros antimicrobianos, y el mayor uso de antimicrobianos no beta-lactámicos, afecta a los niveles de resistencia a otras familias en este tipo de microorganismos. El presente estudio pretende conocer los niveles actuales de resistencia a antimicrobianos de uso frecuente en ITU en aislamientos urinarios de *E. coli* productores de BLEE o AmpC, comparados con aislamientos no productores.

**Material y métodos:** Se estudió la actividad *in vitro* de nitrofurantoína (NIT), ciprofloxacino (CIP), fosfomicina (FOS), cotrimoxazol (SXT) y gentamicina (GEN), en 51 aislamientos urinarios de *E. coli* productores de AmpC (EcAmpC), 50 productores de BLEE (EcBLEE) y 51 no productores de estos tipos de beta-lactamasas (EcNP).

**Resultados:** El 86% de los EcAmpC, el 62% de los EcBLEE y el 80% de los EcNP eran de origen comunitario. La resistencia a CIP fue similar en EcAmpC y EcBLEE (80% y 64% respectivamente), muy superiores ambas al 30% de EcNP. La resistencia a SXT también fue muy superior en EcAmpC y EcBLEE (58% y 56% respectivamente), respecto a EcNP (32%). GEN, NIT y FOS mostraron perfiles de sensibilidad mucho más favorables. Los porcentajes de resistencia de EcAmpC, EcBLEE y EcNP fueron de 20% (que alcanza el 30% si se consideran cepas *no sensibles*), 4% y 2% (8% *no sensibles*) respectivamente frente a GEN, 6%, 6% y 2% frente a NIT y 8%, 6% y 4% frente a FOS.

**Conclusiones:** Los resultados obtenidos muestran muy altos porcentajes de resistencia a SXT y CIP tanto en cepas de EcAmpC como de EcBLEE, que de hecho desaconsejan el uso de estos antimicrobianos si se sospecha un microorganismo de este tipo. En el caso de EcAmpC, los niveles de resistencia a GEN empiezan a ser asimismo preocupantes. Por el contrario, NIT y FOS mantienen buenos niveles de actividad frente a estos dos grupos de microorganismos, similares a los que mantienen frente a EcNP. Sin embargo, el alto porcentaje de resistencia a fluoroquinolonas y, en el caso de EcAmpC, el creciente grado de resistencia a aminoglucósidos, junto con su comportamiento frente a beta-lactámicos, pueden complicar sensiblemente el manejo de infecciones urinarias complicadas en pacientes infectados por estos grupos de microorganismos.

Especie	N.º Cepas testadas	Sinergia Cloxacilina CFX	Sinergia Cloxacilina CAZ	Sinergia Borónico CFT/CLA	Sinergia Borónico CAZ/CLA	Presencia de colonias dispersas
<i>E.coli</i>	30	27	27	26	27	13
<i>K. pneumoniae</i>	4	4	4	4	3	3
<i>K. oxytoca</i>	1	1	1	1	0	1
Total	35	32	32	31	30	17

### 085. DETECCIÓN PRESUNTIVA DE $\beta$ -LACTAMASAS DE TIPO AMP-C EN *E. COLI* Y *KLEBSIELLA SPP* RELACIONADAS CON ITUS

M. Ortega, E. Martín, A. Gutierrez, L. Mora, A. Infante, I. Viciano y A. Pinedo

Servicio de Microbiología. HCU Virgen de la Victoria. Málaga.

**Introducción:** La ausencia de métodos fenotípicos estandarizados para la identificación de cepas productoras de AmpC supone un hándicap en la mayoría de los laboratorios.

**Objetivos:** Investigar la presencia de AmpC mediante los tests fenotípicos de sinergia Cloxacilina-Cefalosporinas y Borónico-Cefalosporinas en cepas sospechosas de *E. coli* y *Klebsiella spp* implicadas en ITUs.

**Material y métodos:** Se testaron 35 aislamientos urinarios de *E.coli* y *Klebsiella spp*. Obtenidos durante el año 2007 en el laboratorio de Microbiología del presente centro. De todos ellos, sólo 3 correspondieron a episodios nosocomiales. Los criterios de inclusión en el estudio fueron presentar resistencia a Cefoxitina (CFX) y Amoxicilina-Clavulánico. El estudio de sensibilidad para determinación de la CMI se realizó mediante el sistema automatizado MicroScan Walkway (Dade-Berhing)<sup>®</sup>. La identificación presuntiva de AmpC se llevó a cabo mediante el test de sinergia de Cloxacilina (Neo-Sensitabs) con CFX y Ceftazidima (CAZ), y el test de sinergia de Acido Borónico (Diatabs) con Cefotaxima-Clavulánico (CFT/CLA) y Ceftazidima-Clavulánico (CAZ/CLA). Para diferenciar fenotípicamente entre AmpC plasmídicas y cromosómicas se realizó antibiograma manual por el método de difusión en disco-placa, registrándose la presencia ó ausencia de colonias dispersas en el borde de los halos de inhibición de los discos de CFX (30 µg), CFT (30 µg), CAZ (30 µg) y Aztreonam (30 µg).

**Resultados:** Se obtuvieron resultados positivos al test de sinergia de Cloxacilina en 32 cepas (91,4%). En el caso del Ácido Borónico, la sinergia con CFT/CLA fue del 88,6% (31 cepas), y con CAZ/CLA del 85,7% (30 cepas). El fenómeno de dispersión de colonias alrededor de los discos citados previamente se observó en 17 aislamientos (48,6%).

**Conclusiones:** 1. La introducción de los tests de Acido Borónico o Cloxacilina como herramientas para screening presuntivo de AmpC podrían ser útiles para disminuir el riesgo de fracaso terapéutico en infecciones por *E. coli* y *Klebsiella spp*. 2. El carácter plasmídico de estas  $\beta$ -lactamasas, observado fenotípicamente en un importante porcentaje de las cepas, alerta ante la posibilidad de un mayor riesgo de propagación de este tipo de resistencia en el medio extrahospitalario.

### 086. EFECTO DE LA INHIBICIÓN DE LAS BOMBAS DE EXPULSIÓN SOBRE MOXIFLOXACINO Y OTRAS FLUOROQUINOLONAS EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* UROPATÓGENAS

C. Freyre<sup>1</sup>, F. Galán<sup>2</sup> y M.A. Rodríguez-Iglesias<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Microbiología. Hospital Universitario de Puerto Real.

<sup>2</sup>Departamento de Microbiología. Universidad de Cádiz.

**Introducción:** Las bombas de flujo son uno de los principales determinantes en la modulación de la acumulación de sustancias en bacterias. La resistencia a quinolonas en aislamientos clínicos de *Escherichia coli* es debida fundamentalmente alteraciones en *gyrA* y la activación de los sistemas de expulsión. Hemos estudiado el efecto de un inhibidor de las bombas de flujo en la concentración mínima

inhibitoria (CMI) a diferentes fluorquinolonas (FQ) en aislamientos clínicos de *E. coli*.

**Material y método:** Se seleccionaron 154 cepas de *E. coli* uropatógenas que presentaban resistencia al ácido nalidíxico (identificación y antibiograma realizado por el sistema Microscan, Siemens). Se realizó un screening para estudiar la presencia del fenotipo de sobreexpresión de bombas (EP) utilizando fenil-arginina-beta-naftilamida (PABN) como inhibidor de la bombas de expulsión AcrAB-TolC. Se analizó la CMI por Etest a ciprofloxacino (CIP), norfloxacino (NOR), levofloxacino (LEV) y moxifloxacino (MOX) en presencia y ausencia de PABN. Se consideraron cepas con fenotipo EP aquellas con una disminución de al menos 4 veces el valor de la CMI original. Algunas cepas que presentaron un fenotipo EP cuando se testó MOX fueron seleccionadas para la detección de mutaciones en *gyrA* mediante secuenciación.

**Resultados:** Las cepas se dividieron en dos grupos en función de la CMI a CIP, sensibles (CMI  $\leq$  1mg/L) o intermedias/resistentes (71 vs 86). La presencia del inhibidor no modificó en ninguno de los dos grupos la CMI a CIP o NOR (2/4 vs 0/3). La CMI a LEV descendió en 36 cepas resistentes a CIP (46%) vs a 9 (13%) sensibles. Fue muy marcado el descenso de la CMI a MOX en 64 (74%) de las cepas resistentes vs 38 (53%) de las sensibles, obteniéndose descensos mayores de 8 en 27 y 11 cepas respectivamente. La relación entre el fenotipo EP y la resistencia a FQ fue estadísticamente significativa en el caso de MOX y LEV. Todas las cepas secuenciadas sensibles a CIP tuvieron una mutación en *gyrA*, principalmente Leu por Ser83, y las resistentes dos, en el codón 83 y en el 87 Asn por Asp.

**Conclusiones:** La resistencia a FQ es un proceso multifactorial. Las bombas de flujo ejercen un efecto sinérgico junto con las mutaciones en las topoisomerasas. Hemos demostrado que los niveles de CMI pueden modificarse con el empleo de inhibidores en determinadas quinolonas, como moxifloxacino. Este mecanismo provee una ventaja selectiva para generar mutaciones cromosómicas y por lo tanto cepas resistentes.

### 087. CARACTERIZACIÓN DE LOS MECANISMOS DE RESISTENCIA A BETALACTÁMICOS EN *SALMONELLA TYPHIMURIUM* MULTIRRESISTENTES

M. Pardos<sup>1</sup>, C. Seral<sup>1</sup>, M.A. Arias<sup>1</sup>, M.I. Millán<sup>1</sup>, M.J. Gude<sup>1</sup>, S. Algarate<sup>1</sup>, M. Borrás<sup>1</sup>, M.E. Llana<sup>1</sup>, F.X. Weill<sup>2</sup>, M.C. Rubio-Calvo<sup>1</sup> y F.J. Castillo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología. H. C. U. Lozano Blesa. Zaragoza. España.

<sup>2</sup>Centre National de Référence des Salmonelles, Laboratoire des Bactéries Pathogènes Entériques. Institut Pasteur. Paris. Francia.

**Objetivos:** Los casos de gastroenteritis por *Salmonella enterica* han descendido en los últimos años en nuestro medio, si bien los aislados de serotipo *Typhimurium* mantienen su incidencia y entre ellos, aumentan los portadores de multiresistencia. Nuestro objetivo fue estudiar los aislados de *Salmonella Typhimurium* multirresistentes encontrados durante los últimos siete años.

**Material y métodos:** La identificación y el estudio de sensibilidad se realizó mediante el sistema WIDER (Soria-Melguizo, España). Sobre las cepas *Typhimurium* resistentes se amplió el estudio de sensibilidad a 32 antibióticos y se analizó la presencia de genes de resistencia, así como de integrones que los pudieran albergar, mediante PCR. Para establecer la relación epidemiológica entre las *S. Typhimurium* seleccionadas se realizó migración en campo pulsado tras digestión por XbaI. Se estudió la presencia de plásmidos tras digestión con Nucleasa S1 y pruebas de conjugación plasmídica y cuando ésta resultó infructuosa, electroporación. Los grupos de incompatibilidad se determinaron por Replicon Typing basado en PCR.

**Resultados:** Se han identificado 1.954 aislamientos de *Salmonella enterica* sobre un total de 52.772 coprocultivos analizados entre 2001 y 2007. Los serotipos encontrados fueron, por orden de mayor

a menor frecuencia, Enteritidis (1.060 casos, 54,25% de todos los casos de salmonelosis), Typhimurium (515, 26,35%), Glostrup (34, 1,74%), Hadar (32, 1,63%), Rissen (25, 1,27%). En función del fenotipo y PFGE se seleccionaron 13 cepas Typhimurium multirresistentes, con el patrón ASSpCTeSu (ampicilina, estreptomycin, espectinomycin, cloramfenicol, tetraciclina, sulfamidas). Seis de las cepas presentaban disminución de las CMI frente a cefalosporinas de cuarta generación (cefepime). Doce resultaron portadoras de plásmidos del grupo IncFII y sólo en un caso el plásmido no resultó conjugativo. En todos los plásmidos se encontró un integrón de clase 1 de 2Kb albergando los cassettes de genes bla<sub>OXA</sub>-1 y aadA1. Una cepa portaba la Isla de Patogenicidad cromosómica SGI1 y debía su resistencia a betalactámicos al gen blpase-1.

**Conclusiones:** La resistencia a betalactámicos en *S. Typhimurium* se asocia con el patrón de multirresistencia ASSpCTeSu. En la mayoría de los casos se transmite de forma horizontal mediante plásmidos conjugativos, y sólo en una cepa la resistencia fue cromosómica, por lo que el conocimiento de su evolución es crucial para su control.

#### 088. COMPARACIÓN DE AISLADOS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE BETALACTAMASAS DE AMPLIO ESPECTRO (ECBLEE) DE ORIGEN HUMANO Y ALIMENTARIO

P. Egea<sup>1</sup>, L. López-Cerero<sup>1</sup>, L. Serrano-Rocha<sup>3</sup>, M.D. Navarro<sup>2</sup>, J. Rodríguez-Baño<sup>2</sup> y A. Pascual<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología. <sup>2</sup>Unidad de Enfermedades Infecciosas. H.U. Virgen Macarena. Sevilla. <sup>3</sup>Dpto. de Microbiología. Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla.

**Introducción:** ECBLEE es una causa emergente de infección por patógenos multirresistentes de adquisición comunitaria. Varios estudios han mostrado la presencia de cepas productoras de CTX-M-14 en muestras fecales de animales de granja y en carne no cocinada, lo que indicaría la posible transmisión, a través de la cadena alimentaria, de ECBLEE en la comunidad.

**Objetivo:** Determinar la relación entre aislados clínicos y de origen alimentario detectados en el área norte de Sevilla.

**Material y métodos:** Se estudiaron 78 aislados clínicos de *E.coli* (uno por paciente) y 81 aislados procedentes de carne no cocinada resistentes a cefalosporinas de 3.<sup>a</sup> generación. Las cepas alimentarias procedían de carne de pollo (52%), pavo (32%), cerdo (14%) y ternera (2%). La identificación y estudio de sensibilidad se realizaron mediante el sistema Wider®. La producción de BLEE se analizó mediante la técnica de doble disco. Se caracterizó el enzima por determinación del pl, PCR del gen *bla* y secuenciación. Se determinó el filogruppo mediante PCR múltiple. La clonalidad se estableció mediante REP-PCR y PFGE con *Xba*I comparando los perfiles con Fingerprinting. Se asignó el mismo pulsotipo con un índice de similaridad de Dice <sup>3</sup> 85%.

**Resultados:** Se identificaron 64 pulsotipos en los aislados cárnicos y 65 en los clínicos. Los enzimas más frecuentes en los aislados clínicos y alimentarios fueron SHV-12 (38% y 79%), CTX-M-14 (33% y 13%) y CTX-M-15 (22% y 4%). La distribución de los filogrupos en aislados clínicos fue: grupo A 26%, B1 29%, B2 29% y D 15%. En cepas alimentarias predominaban las del grupo A (41%) con un 27% del B1, 10% del B2 y 22% del D. Se observó el mismo pulsotipo en 2 grupos: una cepa clínica y otra aislada de pollo productoras de SHV-12 (100% de similaridad) y 3 cepas clínicas (pacientes no relacionados) y 2 aisladas en pavo productoras de CTX-M-15 (88% de similaridad), todas pertenecientes al filogruppo A.

**Conclusiones:** 1. Encontramos clones comunes de ECBLEE entre aislados clínicos y alimentos de origen aviar pertenecientes al filogruppo A, aunque su frecuencia es baja. 2. Estos clones producen enzimas prevalentes en nuestra área. 3. No podemos descartar la posibilidad de que tanto los animales como los pacientes adquirieran las cepas de una fuente común, o que los productos cárnicos fueran contaminados con ECBLEE de origen humano.

<i>Salmonella</i> sp	Distribución n (%)	BLEE	Procedencia BLEE
D factor 9	366 (56%)	1 SHV	Urgencias Infantil
B 4-5	216 (33%)	8 OXA	7 Urgencias Infantil, 1 Hospital General
C2-8	21 (3,2%)	1 SHV	Urgencias General
C6-7	17 (2,6%)	1 SHV	Urgencias Infantil
C1-7	15 (2,3%)	1 CTX-M	Urgencias Infantil
Otras	El resto	Ninguna	

#### 089. EMERGENCIA DE BLEE OXA EN *SALMONELLA* SP. EN CUADROS DE GASTROENTERITIS

A. Barrios Fernández, R. Gómez-Gil, S. García-Bujalance y J. Mingorance

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario La Paz. Madrid.

**Objetivos:** Análisis y caracterización de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en aislamientos de enfermos con *Salmonella* sp. entre enero de 2006 y diciembre de 2008 en el Hospital La Paz.

**Material y métodos:** En el período mencionado se obtuvieron 653 aislamientos de *Salmonella* spp., 637 en heces, 18 en sangre y 1 en orina. Se consideró un solo aislamiento por paciente. La identificación se realizó mediante Sistema Wider (Soria Melguizo) y antisueños comerciales mediante aglutinación para el serotipo. El estudio de sensibilidad antibiótica se realizó por microdilución Wider con puntos de corte CLSI. Se descartó BLEE en todos los aislados con CMI > 1 a cetotaxima, ceftazidima y/o cefepime, mediante E-test de Cefotaxima/Cefotaxima-A.Clavulánico, Ceftazidima/Ceftazidima-A. clavulánico y Cefepime/Cefepime-A.Clavulánico (AB biodisk). Para la caracterización de las BLEE se emplearon iniciadores de CTX-M, SHV, TEM y OXA. La clonalidad se analizó mediante RAPD utilizando los oligonucleótidos OPA18, OPA2 y OPA12.

**Resultados:** Se detectaron 11 *Salmonella* spp. BLEE positivas (1,68% del total). Todas se aislaron en muestras fecales de pacientes con gastroenteritis.

El fenotipo BLEE OXA (64% del total de BLEEs) presentaba un sustrato predominante en cefepime y en menor grado cefotaxima, inhibibles por A. clavulánico en > 2 diluciones y con colonias que saltan en los bordes del halo de inhibición de cefalosporinas. Asociaban resistencia a amoxicilina-A.clavulánico, Piperacilina-Tazobactam y cefoxitina. En tres casos asociaban resistencia a Ac. nalidíxico y en uno a cotrimoxazol. Todas las cepas portadoras de OXA presentaban los mismos patrones de bandas en los ensayos de clonalidad. La primera *Salmonella* sp. OXA se aisló en febrero de 2006 y la última en mayo de 2008.

**Conclusiones:** La salmonella BLEE OXA es la predominante en nuestra población con una incidencia en el serotipo B4-5 del 3,7 % y con especial relieve en población pediátrica.

#### 090. MULTIRRESISTENCIA EN CEPAS DE *SALMONELLA* ASOCIADAS A INFECCIONES EXTRAINTESTINALES

A. Pérez<sup>1</sup>, M. Rodríguez<sup>1</sup>, I. Rodríguez<sup>2</sup>, R. Ortega<sup>1</sup> y M.C. Mendoza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). <sup>2</sup>Departamento de Biología Funcional. Área de Microbiología. Universidad de Oviedo.

**Objetivo:** Caracterizar fenotípica y genotípicamente en relación con la resistencia a antimicrobianos 105 cepas de *Salmonella* implicadas en bacteriemias y otras infecciones extraintestinales en el HUCA en un periodo de 11 años (1991-2002).

**Material y métodos:** Las muestras clínicas se procesaron según técnicas estándar. La identificación y antibiograma se realizaron mediante sistema comercial (PASCO) y pruebas complementarias. La detección de genes de resistencia se realizó mediante técnicas de PCR y amplificación-restricción. Para la detección de integrones se

Serotipo/N.º	Fenotipo-R/ Genes-R	Plásmidos KB/ Genes-R	Integrones KB/ Genes-R
Enteritidis/1	ATSSu/ <i>tem1</i> , <i>tetA</i> , <i>aadA1</i> , <i>sul2</i>		
Typhimurium/2	SxSTSs/ <i>aadA1</i> , <i>tetB</i> , <i>sul2</i>		200
Hadar/1	ASTN/ <i>tem1</i> , <i>strA/B</i> , <i>tetA</i> , <i>gyrA</i> (Asp-87)	9/ <i>tem1</i>	
Typhimurium/3	ACSTSs/ <i>pse1</i> , <i>floR</i> , <i>aadA2</i> , <i>tetG</i> , <i>sul1</i>		1.000/ <i>aadA2</i> ; 1.200/ <i>pse1</i>
Typhimurium/1	ACSTSs/ <i>pse1</i> , <i>floR</i> , <i>aadA2</i> , <i>tetG</i> , <i>sul1</i> , <i>dfrA12</i>		1.000/ <i>aadA2</i> ; 1.200/ <i>pse1</i>
Typhimurium/1	ACSTSs/ <i>G/tem1</i> , <i>cmlA1</i> , <i>aadA2</i> , <i>tetA</i> , <i>sul1</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA12</i> , <i>aac</i> (3) IV	> 140/todos	200; 1.900/ <i>dfrA12</i> - <i>aadA2</i>
Typhimurium/1	ACSTSs/ <i>oxa1</i> , <i>catA1</i> , <i>aadA1a</i> , <i>tetB</i> , <i>sul1</i>	> 140/todos	200; 2.000/ <i>oxa1</i> - <i>aadA1</i>
Berta/1	AGSKN/ <i>tem1</i> , <i>aadA1</i> , <i>aac</i> (3)II, <i>gyrA</i> (Ser-83)	50/ <i>tem1</i> , <i>aac</i> (3) II	1.000/ <i>aadA2</i>

utilizaron iniciadores del gen de la integrasa, caracterizándose los genes de la región variable. Los plásmidos se obtuvieron por el método de lisis alcalina.

**Resultados:** Las 105 cepas se asignaron a 14 serotipos, siendo Enteritidis (67), Typhimurium (15) y Typhi (9) los más frecuentes. El 40% de las cepas fueron resistentes al menos a un antimicrobiano: 25,5% ampicilina (A), 17,3% tetraciclina (T), 13,3% estreptomycin (S), 9,2% sulfamidas (Su), 8,2% nalidixico (N), 7,1% cloranfenicol (C), 6,1% cotrimoxazol (Sx) y 2% gentamicina (G). Se observó un incremento gradual en la resistencia a nalidixico en Enteritidis en los últimos años. El 11% de las cepas fueron multirresistentes: 8 de serotipo Typhimurium y una de los serotipos Enteritidis, Hadar y Berta. Nueve de ellas eran portadoras de integrones de clase 1. En la siguiente tabla se muestran los genes o determinantes de resistencia de las cepas multirresistentes y su localización:

**Conclusiones:** Elevada tasa de multirresistencia en Typhimurium. Cepas con idéntico fenotipo-R mostraron distinto genotipo-R. Disminución de la sensibilidad a fluoroquinolonas en Enteritidis. Los genes de resistencia aparecen sobre distintos elementos móviles como los integrones, de importancia debido a su capacidad de diseminación.

#### 091. MODELO IN VITRO DE GENERACIÓN DE MUTANTES A FLUOROQUINOLONAS EN ESCHERICHIA COLI, PRODUCTORAS Y NO PRODUCTORAS DE BLEE

O. Noguera<sup>1</sup>, S. Belda, J.C. Rodríguez, N. López, M. Ruiz, R. Cremades, E. López, F. Loredó, L. Álvarez, P. López y G. Royo

Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. <sup>1</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Vega Baja. Orihuela. Alicante.

**Objetivos:** Se ha puesto en marcha un modelo in vitro de generación de mutantes resistentes a fluoroquinolonas en *E. coli*, tanto productoras como no productoras de BLEES y se han comparado los datos obtenidos con la evolución de la sensibilidad a fluoroquinolonas en estos dos grupos de cepas durante un periodo de 17 años.

**Material y métodos:** Cepas: Dos aislados clínicos de *E. coli* sensibles a ciprofloxacino, una de ellos productor de BLEE (CTX-M-14). *Modelo de generación de mutantes:* Se realizó una exposición in vitro a concentraciones subinhibitorias y constantes de ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino durante 25 días. *Caracterización de mutantes:* Todos los mutantes generados fueron estudiados fenotípicamente (determinación del incremento de la CMI a las fluoroquinolonas) y se determinaron las mutaciones del gen *gyrA*.

Evolución de la resistencia a fluoroquinolonas en nuestro medio: Se analizó la resistencia a estos compuestos en los últimos 17 años.

**Resultados:** La exposición a los tres compuestos provocó leves disminuciones de la sensibilidad antibiótica de los mutantes (ninguno superó una CMI de 1 µg/ml). Sin embargo, la cepa productora de BLEES genera mutantes más rápidamente (10 días de media) que la no productora (15 días de media). Al comparar la capacidad de generación de mutantes de las diferentes fluoroquinolonas, se observa que levofloxacino es la fluoroquinolona que genera mutantes más rápidamente (7,5 días de media versus 12,5 días para ciprofloxacino y 17,5 días para moxifloxacino).

Si analizamos los datos en función de la concentración de antibiótico utilizada en la generación de mutantes, se observa que sólo las concentraciones más bajas de fármacos generan mutantes (10 y 15 días de media para la cepa productora y no productora de BLEES para la concentración de 0,015 µg/ml). El resto de concentraciones de fármacos no generan mutantes para ninguno de los fármacos.

Respecto al análisis genético de los mutantes, ambas cepas generan mutantes con una mutación única en el aminoácido 87 (ácido aspártico cambia a glicina)

**Discusión:** La exposición repetida a concentraciones bajas de fluoroquinolonas genera mutantes resistentes a las mismas, especialmente en cepas productoras de BLEES, por tanto, hay que utilizar dosis adecuadas de fármacos para que alcancen concentraciones óptimas en el lugar de la infección, a la vez que se deben hacer más estudios para conocer mejor la interacción que se produce en nichos biológicos como la flora intestinal entre las bacterias presentes en las mismas y las concentraciones residuales de fluoroquinolonas que quedan en el intestino tras la administración oral de las mismas.

#### 092. EVOLUCIÓN DE LAS RESISTENCIAS A CIPROFLOXACINO EN ESCHERICHIA COLI DURANTE 17 AÑOS: INFLUENCIA DE DOS CRITERIOS DE ELIMINACIÓN DE DUPLICADOS

O. Noguera<sup>1</sup>, S. Belda, N. López, J.C. Rodríguez, M. Moya, M. Ruiz, M.T. Moreno, L. Álvarez, R. Ferrari, R. Cremades, N. Viciano, P. López y G. Royo

Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. <sup>1</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Vega Baja. Orihuela. Alicante.

**Objetivo:** Se conoce que las cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) presentan tasas de resistencia a ciprofloxacino superiores a las que presentan las cepas no productoras de este enzima. Pretendemos conocer la influencia de dos criterios de eliminación de duplicados en la prevalencia de esta resistencia en nuestro medio.

**Material y métodos:** Cepas: Todos los aislados clínicos de *E. coli* entre 1992 y 2008. *Sensibilidad antibiótica:* Se realizó mediante el sistema Wider (Soria Melguizo). La presencia de BLEE se confirmó mediante los métodos recomendados por CLSI. *Criterios de eliminación de duplicados:* a) CLSI. Se considera el primer aislado de cada paciente, b) AB: El primer aislado de cada paciente y los aislados que cambien la sensibilidad antibiótica según los criterios recomendados por ESCMID Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance (ESGARS).

**Resultados:** Se observa que la resistencia a ciprofloxacino en *E. coli* va aumentando durante todo el periodo estudiado, desde menos de 15% en los primeros años hasta más de 20% al final del estudio. En cepas productoras de BLEES, los porcentajes siempre han sido superiores, llegando a más del 60% en los últimos años del estudio. Por otra parte, la aplicación del criterio recomendado por CLSI no detecta la presencia de cepas resistentes a ciprofloxacino, tanto en cepas productoras como no productoras de BLEES. El análisis global de los datos muestra que aplicando los criterios del CLSI, la resistencia de todas las cepas, productoras de BLEES y no productoras son

Año	Total		BLEES		No BLEES	
	CLSI	AB	CLSI	AB	CLSI	AB
1992	13,9	13,8	0,0	0,0	13,9	13,8
1993	13,7	14,1	0,0	0,0	13,7	14
1994	14	15,4	0,0	0,0	14	15,4
1995	18,7	19,8	0,0	0,0	18,7	19,9
1996	16,8	19,3	100,0	100,0	16,5	18,8
1997	18,4	21,1	40	50	18,1	20,9
1998	20,3	24	37,5	40	20	23,9
1999	18,2	23,2	50	66,6	17,9	22,6
2000	20,2	21,7	100,0	100,0	20	21,4
2001	22,6	24,7	100,0	100,0	22,1	24,1
2002	19,4	21,9	46,7	55	18,9	21,3
2003	24,4	26,8	56,5	60	22,2	25,4
2004	27,4	30,7	66,7	68,5	25,7	28,9
2005	24,5	27,9	66,1	69,3	23	25,9
2006	24,7	29,5	68,9	75,6	22,7	26,6
2007	27,2	31,2	67,5	72,7	25	29,2
2008	23,8	30,2	65,3	72,8	21,9	27,4

respectivamente 22,4, 64,6 y 21,2; mientras que con el otro criterio, los porcentajes se elevan a 25,8, 71,2 y 26,8. Los datos se detallan en la tabla adjunta.

**Discusión:** A pesar de que el CLSI recomienda el análisis de resistencia empleando el primer aislado de cada paciente, las recomendaciones de ESGARS muestran la posibilidad de utilizar el criterio del antibiograma como alternativa. En el caso estudiado, se observa que con éste último, las tasas de resistencia a ciprofloxacino son más elevadas. Hay que valorar la importancia clínica de este hecho y valorar la posibilidad de modificar el criterio del CLSI en el estudio de la resistencia de algunos patógenos.

## Sesión 7:

### Infecciones por bacterias multirresistentes en pacientes específicos

#### 093. INCIDENCIA DE MICROORGANISMOS MULTIRRESISTENTES EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS POLIVALENTE DE UN HOSPITAL UNIVERSITARIO DE TERCER NIVEL

M. Catalán<sup>1</sup>, E. Regidor<sup>1</sup>, C. Pérez-Castaño<sup>1</sup>, F. Jaén<sup>2</sup>, I. Sanz-Gallardo<sup>2</sup>, F. Chávez<sup>3</sup> y J.C. Montejo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Medicina Intensiva. Unidad Polivalente. <sup>2</sup>Servicio de Medicina Preventiva. <sup>3</sup>Servicio de Microbiología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

**Introducción:** Uno de los problemas más acuciantes con los que se enfrenta la Sanidad a nivel mundial, sobre todo en el ámbito Hospitalario, es la aparición de cepas de microorganismos multirresistentes (MMR). Es un problema sanitario que dependiendo del escenario donde se desarrolle sus consecuencias pueden ser catastróficas. Intentar erradicar o controlar este tipo de brotes supone un elevado esfuerzo y coste.

**Objetivo:** Describir la evolución de los aislamientos de MMR en una UCI-Polivalente.

**Material y métodos:** Estudio descriptivo de casos incidentes de MMR registrados en un periodo de 5 años (2004-2008). Se incluyen pacientes adultos ingresados en UCI-Polivalente. Se analizan diferencias anuales en: edad, diagnóstico, escalas de gravedad al ingreso, tratamiento antibiótico, infecciones adquiridas en UCI, MMR aislados, estancia y mortalidad bruta en UCI. Se utilizó la base de datos ENVIN-HELICS II completo.

**Resultados:** Ingresaron 1.877 pacientes. No hubo diferencias significativas entre los diferentes años en la edad media (55,39 ± 16,49

años), el diagnóstico principal al ingreso (Insuficiencia respiratoria: 22,48%; Trasplante hepático 17,27%; Shock séptico 15%; ACVA 10%), escalas de gravedad (APACHE II: 19,04 ± 8,76, SAPS II: 35,79 ± 15,83), factores de riesgo para infección (ventilación mecánica: 76,71%, sondaje vesical: 97,99%, catéter venoso central: 95,98%, cirugía urgente: 14,06%), porcentaje de pacientes con antibióticos (88%) y grupo de antibióticos utilizados. Se observó un incremento de la incidencia de infecciones globales a partir de 2006 (57,13 infecciones/1000 días estancia). La NAVM fue la infección predominante (51%, 56%, 59%, 48%, 25% y 26% sobre total de infecciones en cada periodo). El porcentaje de SAOR aislados fue de 13,41%; 2,7%, 1,64%, 1,88% y 0,60%; SCNOR de 9,76%; 15,14%; 10,11%; 18,13% y 25,75%. El porcentaje de *Escherichia coli* BLEA (+) sobre los aislados de *E. coli* fue del 0%; 27,7%; 6,67%; 0% y 28,57%. El porcentaje de *Pseudomona aeruginosa* multirresistente fue del 0%; 20%; 27%; 18,18% y 47,37% de cepas aisladas. *Acinetobacter baumannii* MR supuso el 0%; 0%; 28,96%; 33,44% y 10,18% de los Bacilos Gram negativos aislados en los diferentes periodos. Se ha observado un incremento de especies de *Candida* no albicans 3,66%; 8,11%; 5,74%; 3,75% y 6,29% con menor sensibilidad a los antifúngicos habituales.

**Conclusiones:** 1. Se aprecia un incremento de aislamientos de SCN-Oxa R en bacteriemias por catéter. 2. La incidencia de infección por SAOR es muy reducida en nuestra UCI. 3. Se detectó un brote epidémico por ABMR que fue controlado de manera multidisciplinar. 4. Se ha incrementado la infección por *Candida* no albicans.

#### 094. FACTORES DE RIESGO DE COLONIZACIÓN Y/O INFECCIÓN POR MULTIRRESISTENTES EN UCI

M.J. López Pueyo<sup>1</sup>, P. Olaechea<sup>2</sup>, J. Insausti<sup>3</sup>, F. Álvarez Lerma<sup>4</sup>, M. Palomar<sup>5</sup>, J.J. Otal<sup>5</sup>, A. Caballero<sup>6</sup> y M. Barranco<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Servicio Medicina Intensiva. Complejo Asistencial de Burgos. <sup>2</sup>Servicio Medicina Preventiva. H. de Galdakao. Bilbao. <sup>3</sup>Servicio de Medicina Intensiva. H. de Navarra (Pamplona). <sup>4</sup>Servicio de Medicina Intensiva. H. del Mar. Barcelona. <sup>5</sup>Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona. <sup>6</sup>Servicio de Medicina Intensiva. H. San Millán. Logroño. <sup>7</sup>Servicio de Medicina Intensiva. UCC Virgen de las Nieves. Granada.

**Objetivo:** Determinar factores de riesgo de colonización/infección por algún microorganismo multiresistente al ingreso o durante su estancia en pacientes que ingresan en UCI.

**Método:** Estudio prospectivo, observacional y multicéntrico. Base de datos ENVIN 2006, 2007 y 2008. Se consideran los pacientes que presentan durante su estancia en UCI colonización o infección por SARM, ERV, *Acinetobacter*, BLEES, *Pseudomona* y/o otros BGN multirresistentes (resistentes a tres familias de antibióticos) frente a los que no la presentan. Las variables que se comparan son: origen del paciente, enfermedad de base, APACHE II, edad y sexo.

Análisis de regresión logística; variable dependiente: la colonización/infección por uno o más multiresistentes (C/I).

**Resultados:**

**Conclusiones:** En un paciente que ingresa en UCI, si conocemos la enfermedad de base, su origen, APACHE y sexo podemos predecir si está o estará colonizado y/o infectado por un microorganismo multiresistente durante su estancia. 1) El perfil de menor de colonización/infección por multiresistente corresponde a pacientes coronarios con APACHE menor de 10 y que ingresan desde su domicilio. Se podrían retirar de las medidas de detección de multiR y aislamiento. 2) El perfil de mayor riesgo lo poseen los pacientes con APACHE > 10, provenientes de otra UCI, planta o sociosanitario, con patología de base médica o traumática. Estos serían candidatos a medidas estrictas de control de multiresistentes y si la microbiología inicial es negativa, se podrían beneficiar de la realización de cultivos de vigilancia.