

pacientes inmunodeprimidos, además suele presentar resistencia a los antifúngicos disponibles.

Material y métodos: En el período febrero-abril de 2008, *S. proliferans* se aisló en muestras respiratorias de siete pacientes neutropénicos ingresados en el Servicio de Hematología del H.U. Virgen de las Nieves. Las muestras, cinco esputos y dos aspirados bronquiales se procesaron para estudio de bacterias y hongos. La identificación del hongo se llevó a cabo en base a la morfología de la colonia en el cultivo y a su morfología microscópica.

Resultados: Las hifas del hongo fueron visualizadas en la tinción de Gram de la muestra directa presentando, en algunos casos, morfología típica de *Scedosporium*. La presencia del hongo se detectó en cinco días aproximadamente en todos los medios, salvo en los que contenían cicloheximida. Las colonias eran planas, verde-grisáceas a negras, algodonosas. En la tinción de azul algodón de lactofenol, se observaron las características morfológicas diferenciales de la especie: hifas septadas y pie de la conidia con anillos abultados. Las muestras se remitieron al Instituto de Salud Carlos III, donde además de confirmar la identificación se realizó antifungigrama, siendo resistente a anfotericina B, itraconazol, voriconazol, posaconazol, terbinafina y caspofungina en los siete casos. Los pacientes fueron tratados con voriconazol y terbinafina, falleciendo cinco de ellos, aunque no se consideró *S. proliferans* la causa directa de su muerte. Se tomaron muestras ambientales para cultivo, creciendo en una de ellas *S. proliferans*. Entre otras medidas preventivas, se realizó limpieza y desinfección e instalación de filtros de alta eficacia, y posteriormente se clausuró la unidad afectada para realizar remodelaciones estructurales.

Conclusiones: Los hongos oportunistas multirresistentes pueden originar brotes hospitalarios sobre todo en pacientes inmunodeprimidos. Debido a la elevada resistencia a antifúngicos que presentan, las medidas preventivas y el diagnóstico microbiológico rápido son de máxima importancia. El tratamiento recomendado es la combinación de voriconazol y terbinafina, junto con factores estimulantes de colonias de granulocitos, ya que la recuperación de la neutropenia es determinante en los pacientes que han sobrevivido a la infección por *S. proliferans*.

Sesión 19:

Otras bacterias multirresistentes

271. FORMACIÓN DE BIOFILM Y EXPRESIÓN DE GENES DE VIRULENCIA POR CEPA MULTIRESISTENTE DE *HELICOBACTER PYLORI*

A.E. Vega¹, T. Alarcón², F.A. Persia¹, T.I. Cortiñas¹, M. López-Brea² y H.J. Silva¹

¹Área Microbiología. Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia. UNSL. San Luis. Argentina. ²Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

En la infección por *Helicobacter pylori* es importante destacar dos aspectos epidemiológicos: el aumento de cepas resistentes a Claritromicina (Cla) y Metronidazol (Mtz) y el debate aún abierto respecto a la identificación de las vías de transmisión al ser humano. La posibilidad de que cepas resistentes de *H. pylori* tengan la capacidad de formar biofilm y existir como tal sobre superficies expuestas al agua podría dar indicios de otra vía de infección para este tipo de cepas, sumado a las ventajas selectivas de crecimiento que presentan frente a las cepas salvajes. El objetivo del estudio fue comparar la capacidad de formación de biofilm de una cepa multiresistente a Cla y Mtz y la expresión de genes de virulencia durante la formación de biofilm

en superficie de vidrio y poliestireno, con respecto a una cepa sensible de *H. pylori*.

Se empleó el aislamiento clínico resistente a Cla y Mtz HP796 y la cepa de referencia CCUG 11638 de *H. pylori*. Las cepas fueron cultivadas en Caldo Mueller-Hinton (CMH) con 0,3% de glucosa suplementado con a) 5% SFB y b) un suplemento alternativo de origen microbiano. Para la formación de biofilm se colocaron placas (2 cm²) de vidrio y poliestireno. Los cultivos fueron incubados en microaerofilia durante 196 h a 37 °C. Se realizó el recuento de viables (ufc/ml) para las bacterias formadoras de biofilm a 24, 48, 96 y 196 h. Los cambios morfológicos y de viabilidad fueron observados por fluorescencia utilizando el kit BacLigth Live/Dead. Se analizaron genes de virulencia: ureA, flaA, omp18, lpxD; del quorum sensing: luxS, y housekeeping: 16SRNA. La extracción de ARN, se realizó por el método del TRIzol.

Ambas cepas mostraron capacidad de formación de biofilm en las distintas superficies y medios ensayados. No obstante la cepa resistente presentó mayor capacidad de formación de biofilm ($p \leq 0,005$) permaneciendo viable hasta las 196 h. En ambas cepas se observó una mayor expresión de las células en el biofilm de luxS y genes de virulencia que en las células planctónicas. No se encontró diferencias estadísticamente significativas en la expresión de genes analizados en ambas superficies y medios utilizados.

Este trabajo demuestra la capacidad de una cepa multiresistente de *H. pylori* de generar biofilm sobre distintas superficies y condiciones de cultivo conservando la expresión de genes de virulencia, lo que podría considerarse una ventaja selectiva para sobrevivir en ambientes naturales aumentando el riesgo de infección con cepas resistentes.

272. MÉTODO RÁPIDO DE DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA A CLARITROMICINA EN *HELICOBACTER PYLORI* DIRECTAMENTE A PARTIR DE BIOPSIA GÁSTRICA

E. López-Girona, S. Belda, M. Ruiz, J. Sola-Vera¹, J. Sáez¹, J.C. Rodríguez, C. Sillero¹ y G. Royo

Servicio de Microbiología. ¹Servicio de Medicina Digestiva. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández.

Objetivo: La triple terapia con claritromicina, amoxicilina e IBP es de primera línea en el tratamiento de la infección por *H. pylori*. No obstante, existen cepas resistentes a los macrólidos que condicionan un fallo de erradicación. Nuestro objetivo ha sido detectar las mutaciones asociadas a la resistencia a claritromicina y para ello hemos diseñado un sistema de detección rápida de la misma sin necesidad de cultivar la biopsia gástrica.

Material y métodos: *Muestras:* 148 biopsias gástricas consecutivas obtenidas entre los años 2006 y 2008. La presencia de *H. pylori* se determinó por métodos clásicos y mediante la detección del gen de la ureasa de este microorganismo con PCR a tiempo real. *Extracción del DNA:* Se realizó mediante QIAamp DNA Minikit (QIAGEN, USA). *Amplificación del fragmento del gen 23S rRNA:* Se realizó una primera amplificación con los cebadores HPY-S: 5'-cctccgactgtttacaaa-3' y 5'-aaagctcccacatctctg-3. Para mejorar la sensibilidad de la técnica se realizó otra amplificación utilizando el primer amplificado como diana, utilizando los cebadores internos 5'-gggtctgaagggttaagag-3 y 5'-aaagctcccacatctctg-3

Tras visualizar el amplificado en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio, el proceso de secuenciación se realizó en ambas direcciones, enviando las muestras a Macrogen (Corea del Sur). *Análisis de los resultados:* Se estudió la presencia de mutaciones del gen, mediante el análisis del fragmento amplificado con el GenBank y comparando las secuencias con las de cepas sensibles y resistentes a claritromicina, previamente descritas en la literatura.

Resultados: Tras el análisis del fragmento amplificado de 244 bp hemos detectado la presencia de mutaciones asociadas a la resistencia

a claritromicina en 21 cepas (5 de ellas presentaban A2142G y las otras 16 presentaban A2143G). No hemos encontrado ninguna cepa que presente las mutaciones A2142C, A2115G y G2141A aunque están descritas en la literatura en otras cepas resistentes. Esto supone la presencia de microorganismos resistentes en el 14,28% de las muestras estudiadas.

Conclusiones: La detección rápida de la resistencia a claritromicina permitiría modificar el tratamiento de primera elección, disminuyendo los fallos de erradicación. Este método permite además la detección de resistencias en pacientes en los que no es posible realizar el antibiograma clásico. La aplicación de estas técnicas supondrá un avance importante en el manejo de estos pacientes porque permitirá individualizar la terapia en base a datos microbiológicos.

273. RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *HELICOBACTER PYLORI* AISLADO DE BIOPSIA GÁSTRICA EN NIÑOS ESPAÑOLES E INMIGRANTES

A. Somodevilla, T. Alarcón, P. Urruzuno, M.J. Martínez, S. Agudo y M. López-Brea

Microbiología y Parasitología. Hospital Universitario de La Princesa. Madrid.

Objetivo: Analizar y comparar muestras de pacientes pediátricos nacidos en España y en el extranjero para determinar los distintos patrones de resistencia frente a antibióticos comúnmente utilizados en el tratamiento de patologías producidas por *H.pylori*.

Material y métodos: Las cepas de *H.pylori* fueron obtenidas a partir de biopsias gástricas de niños sintomáticos. Los niveles de resistencia se determinaron mediante difusión en disco para amoxicilina y tetraciclina y E-test para metronidazol, claritromicina, ciprofloxacino y aquellos casos en que el halo de inhibición de la difusión en disco fue ≤ 20 mm. Se consideraron resistentes aquellas cepas que presentaron CMI ≥ 8 mg/l para metronidazol, ≥ 1 mg/l para claritromicina, ≥ 4 mg/l para ciprofloxacino y tetraciclina y ≥ 2 mg/l para amoxicilina.

Resultados: 167 pacientes fueron incluidos en el estudio: 141 eran españoles y 26 de otras nacionalidades. Todas las cepas fueron sensibles a tetraciclina en ambos grupos. Sólo 2 cepas (1,4%) de niños españoles fueron consideradas resistentes a amoxicilina. La resistencia total a metronidazol fue del 40,1% siendo del 38,5% en niños inmigrantes y del 40,4% en niños españoles. La resistencia total para ciprofloxacino fue 2,45% siendo resistente un 3,85% de las cepas obtenidas en niños extranjeros y un 2,2% en cepas de niños españoles. Para claritromicina la resistencia detectada fue 20% en cepas de niños inmigrantes y 53,2% en el grupo de niños españoles, lo que supuso un 48,2% de cepas resistentes en el total de muestras estudiadas.

Conclusión: Los niveles de resistencia frente a los antibióticos más frecuentemente utilizados en el tratamiento de la infección por *H. pylori* fueron similares en ambos grupos excepto en el caso de claritromicina, para la que los mayores valores de resistencia corresponden al grupo de niños españoles quizá por el elevado consumo de macrólidos durante la infancia para el tratamiento de infecciones respiratorias.

Agradecimientos: Proyecto FIS 052442 y 052452.

	Total		Niños extranjeros		Niños españoles	
	Cepas	Resistentes	Cepas	Resistentes	Cepas	Resistentes
Amoxicilina	165	1,20%	26	0%	139	1,40%
Tetraciclina	167	0%	26	0%	139	0%
Metronidazol	167	40,10%	26	38,50%	141	40,40%
Ciprofloxacino	163	2,45%	26	3,85%	137	2,20%
Claritromicina	164	48,20%	25	20%	139	53,20%

274. DETECCIÓN DE LA RESISTENCIA A QUINOLONAS EN *HELICOBACTER PYLORI* DIRECTAMENTE A PARTIR DE BIOPSIA GÁSTRICA

S. Belda, E. López-Girona, M. Ruiz, J. Sáez¹, J. Sola-Vera¹, J.C. Rodríguez, C. Sillero¹ y G. Royo

Servicio de Microbiología. ¹Servicio de Medicina Digestiva. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández.

Objetivo: El uso de quinolonas en el tratamiento de la infección por *H. pylori* ha aumentado mucho y se ha propuesto la triple terapia con levofloxacino, amoxicilina e IBP como muy eficaz para la erradicación de esta bacteria. Nuestro objetivo ha sido detectar de forma rápida las mutaciones asociadas a la resistencia a quinolonas, y para ello, hemos diseñado un sistema que las detecta directamente a partir de la biopsias gástricas, sin necesidad de cultivo.

Material y métodos: Muestras: 147 biopsias gástricas consecutivas de pacientes con infección por *Helicobacter pylori* obtenidas entre los 2006 y 2008, demostrada por métodos clásicos y mediante detección del genoma de *H. pylori*, amplificando el gen de la ureasa de este microorganismo con PCR a tiempo real. **Extracción del DNA:** La extracción del DNA de las biopsias se realizó mediante el sistema EZ1 DNA Tissue kit (Qiagen) y el bioRobot EZ1. **Nested PCR:** La primera amplificación del QRDR del *gyrA* se realizó utilizando los cebadores Gyr A externo (Forward) 5'-caatgagcgtgatcatagg-3' y Gyr A externo (Reverse) 5'-gccatccactaattccaag-3' que amplifican el fragmento comprendido entre los codones 38 y 154, amplificando un total de 428 pb. Con objeto de aumentar la sensibilidad de la técnica, se realizó otro proceso de amplificación, utilizando unos cebadores que hibridan en el interior del primer fragmento amplificado: Gyr A interno (Forward): 5'-tttaccgacgctagagatgg y Gyr A interno (Reverse): 5'-aatcttgccgcatcttctact. Se visualizó el amplificado en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio y tras la correcta amplificación del fragmento, el proceso de secuenciación se realizó en ambas direcciones, enviando las muestras a Macrogen (Corea del Sur). **Análisis de los resultados:** Se estudió la presencia de mutaciones del gen, mediante el análisis del fragmento amplificado con el GenBank y comparando las secuencias con la de cepas sensibles y resistentes a quinolonas, previamente descritas en la literatura.

Resultados: Tras el análisis del fragmento amplificado hemos encontrado la presencia de mutaciones asociadas a la resistencia a quinolonas en 20 biopsias. No hemos encontrado ninguna cepa que presentara las mutaciones C261A, C261G, A272G, G271T y C263T aunque se habían descrito previamente en la literatura en otras cepas resistentes. El porcentaje de resistencia a quinolonas en nuestra serie fue de un 5,44%.

Conclusiones: Además de constatar la existencia de cepas de *H. pylori* resistentes a fluoroquinolonas en nuestro medio, nuestro trabajo aporta un método rápido y fiable de estudio de esta resistencia antibiótica. Esta técnica evita la necesidad de realizar cultivo y antibiograma, lo que supone un importante avance a la hora de decidir el tratamiento antibiótico a instaurar, ya que las quinolonas se han convertido en unos de los fármacos más usados en el tratamiento de la infección por *H. pylori*.

275. RESISTENCIA A CLARITROMICINA EN *HELICOBACTER PYLORI*. DETECCIÓN MEDIANTE SECUENCIACIÓN DEL GEN 23S RRNA

E. López-Girona, S. Belda, M. Ruiz, J. Sola-Vera¹, J. Sáez¹, J.C. Rodríguez, C. Sillero¹ y G. Royo

Servicio de Microbiología. ¹Servicio Digestivo. Hospital General Universitario de Elche.

Objetivo: Debido a que claritromicina es uno de los fármacos de elección en el tratamiento de la infección gástrica por *Helicobacter*

pylori, hemos detectado mediante secuenciación la presencia de mutaciones que codifican resistencia a este antibiótico.

Material y métodos: Cepas: 28 aislados clínicos de *Helicobacter pylori* obtenidos entre marzo de 2007 y diciembre de 2008. *Extracción del DNA:* Se realizó mediante QIAamp DNA Minikit (QIAGEN, USA). *Amplificación del fragmento del gen 23S rRNA:* Se realizó con los cebadores HPY-S: 5'-aggttaagagatgcgtcagtc-3' y HPY-A: 5'-cgcatgatattccattagcagtc-3' que amplifican el fragmento comprendido entre las posiciones 1.931 y 2.175 del gen. Se visualizó el amplificado en un gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio y tras la correcta amplificación del fragmento, el proceso de secuenciación se realizó en ambas direcciones, enviando las muestras a Macrogen (Corea del Sur). *Análisis de los resultados:* Se estudió la presencia de mutaciones del gen, mediante el análisis del fragmento amplificado con el GenBank y comparando las secuencias con la de cepas sensibles y resistentes a claritromicina, previamente descritas en la literatura.

Resultados: Tras el análisis del fragmento amplificado de 244 bp hemos encontrado la presencia de mutaciones asociadas a la resistencia a claritromicina en 4 cepas (3 de ellas presentaban A2142G y otra presentaba A2143G). No hemos encontrado ninguna cepa que presentara las mutaciones A2142C, A2115G y G2141A aunque se habían descrito previamente en la literatura en otras cepas resistentes. La media de microorganismos presentes en las biopsias de pacientes con cepas resistentes a claritromicina fué de 86.391.225 bacterias/biopsia mientras que en pacientes con cepas sensibles, este número se eleva a 142.232.237 bacterias/biopsia.

Conclusiones: Aunque hemos estudiado un número limitado de aislados clínicos, hemos detectado la presencia de un 14,28% de cepas resistentes a claritromicina, lo que puede explicar el elevado índice de fracasos terapéuticos que se producen al utilizar el tratamiento empírico clásico. Este nuevo método genético permite obtener datos de resistencia de forma rápida y fiable, lo que mejora el manejo clínico de los pacientes, ya que el estudio de sensibilidad antibiótica en *H. pylori* por métodos clásicos es lento y presenta dificultades técnicas de realización.

276. DETECCIÓN RÁPIDA DE RESISTENCIA A CLARITROMICINA EN AISLAMIENTOS MULTIRRESISTENTES DE *H. PYLORI* A PARTIR DE MUESTRAS DE BIOPSIAS GÁSTRICAS

S. Agudo, T. Alarcón, D. Domingo, A. Somodevilla, M.J. Moreno y M. López-Brea

Departamento de Microbiología. Hospital Universitario La Princesa. Madrid.

Introducción: Claritromicina y metronidazol son los dos antibióticos más utilizados para el tratamiento de la infección por *H. pylori*, y una de las causas del fallo del tratamiento. Debido al alto porcentaje de resistencia que se presenta en nuestro medio a la claritromicina y la aparición de cepas multirresistentes, es importante la detección rápida antes de iniciar el tratamiento. El objetivo de este estudio fue evaluar un nuevo método de extracción automática de DNA en muestras de biopsia gástrica basado en partículas magnéticas de sílice, que puede ser combinado con diferentes métodos de amplificación de DNA, para detectar la presencia de *H. pylori* y su resistencia a claritromicina en muestras de biopsia gástrica.

Material y métodos: Se estudiaron 49 muestras de biopsia gástrica obtenidas de pacientes pediátricos con síntomas gástricos, que fueron recibidas en Microbiología entre Diciembre 2007 y Junio 2008. Las muestras de biopsia fueron procesadas de acuerdo con los protocolos microbiológicos para la realización del cultivo. Resistencia a claritromicina y metronidazol fue determinada mediante E-test. La extracción de DNA se llevó a cabo mediante NucliSENS easyMAG ((bioMérieux) siguiendo las instrucciones del fabricante. El kit Muta-

REAL[®] *H. pylori* fue usado para detectar *H. pylori* y su resistencia a claritromicina, mediante el sistema de PCR en Tiempo Real de Light-Cycler[®] (Roche). Se realizó la amplificación del gen b-globina humano en las biopsias *H. pylori* negativas.

Resultados: De las 49 biopsias estudiadas, 31 fueron positivas para *H. pylori* mediante la PCR a tiempo real y 29 fueron positivas por el cultivo de biopsia. De las 31 positivas mediante PCR, 15 fueron sensibles y 16 resistentes a claritromicina, con una sensibilidad del 93,7 y una especificidad del 93,3 comparado con los métodos tradicionales. 8 de las 16 cepas resistentes a claritromicina también lo fueron a metronidazol, presentando multirresistencia.

Conclusión: Un 51,6% de las cepas resultaron resistentes a claritromicina y un 25,8% fueron multirresistentes (resistencia a claritromicina y metronidazol). Con este alto porcentaje de resistencias es recomendable realizar estudios de sensibilidad antibiótica antes de iniciar tratamiento. El kit MutaREAL[®] detecta *H. pylori* y su sensibilidad a claritromicina con una excelente correlación con los métodos fenotípicos. Es rápido y se puede hacer en tan sólo 1 hora después de la extracción de DNA.

Agradecimientos: Proyecto FIS05/02452.

277. FRACASO TERAPÉUTICO EN LA ERRADICACIÓN DE *HELICOBACTER PYLORI*, EN AISLAMIENTOS CON RESISTENCIA PRIMARIA A CLARITROMICINA Y METRONIDAZOL

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

¹Unidad de Microbiología. UGC Laboratorios Clínicos. ²Unidad de Digestivo. Servicio de Medicina Interna. Hospital General Básico de Riotinto. Minas de Riotinto. Huelva.

Introducción/Objetivos: La infección por *Helicobacter pylori* está relacionada con diversas enfermedades digestivas como la gastritis crónica activa, el linfoma tipo MALT y la úlcera gastroduodenal, por lo que su tratamiento tiene una gran relevancia clínica. El objetivo de este trabajo ha sido el estudio de la sensibilidad de *H. pylori*, y la consecuencia que ha tenido la resistencia primaria a claritromicina y metronidazol, con el tratamiento antimicrobiano erradicador.

Material y métodos: Se han procesado un total de 301 biopsias gástricas durante el año 2008. Todas ellas, procedían de pacientes que fueron remitidos para esofagogastroscoopia (FGC) por presentar síntomas del tracto gastrointestinal superior, y que no habían recibido tratamiento erradicador previo. Se realizó biopsia gástrica a todos aquellos pacientes que presentaron una clínica de dispepsia ulcerosa crónica y lesión endoscópica. Las biopsias fueron remitidas al laboratorio de Microbiología y se les realizó la prueba de la ureasa en tubo, una tinción de gram y cultivo en medio selectivo para *Helicobacter pylori*, que fueron incubados durante cinco días en condiciones de microaerofilia a 37 °C. Los diferentes aislamientos fueron sometidos a pruebas de susceptibilidad antibiótica mediante E-test según las normas del CLSI frente a los siguientes antimicrobianos: amoxicilina, claritromicina, metronidazol.

Resultados: Se aisló *Helicobacter pylori* en el 35% (105) de las biopsias remitidas al laboratorio y se realizó antibiograma a 73 del total de aislamientos. Según los puntos de corte establecidos por el CLSI y BSAC, los valores de CMI₅₀, CMI₉₀ y porcentaje de resistencia de los aislamientos estudiados frente a los antimicrobianos de primera línea son los siguientes: Para la amoxicilina (< = 0,016 µg/mL, 0,032 µg/mL y 0%), claritromicina (< = 0,016 µg/mL, 24 µg/mL y 18%), y metronidazol (0,75 µg/mL, > = 256 µg/mL y 41%). Nueve, fueron los pacientes en los que se aisló *H. pylori* con resistencia primaria a claritromicina y metronidazol. Tras la revisión de la historia clínica, cuatro de ellos habían presentado fracaso terapéutico tras la toma de antibioterapia de elección (omeprazol, claritromicina y amoxicilina) y sólo en uno se había conseguido la erradicación.

Antibiótico	(mg/mL)	N (%) de aislados				
	Intervalo CMI	MIC ₅₀	MIC ₉₀	Sensible	Intermedia	Resistente
Penicilina	≤ 0,015-16	0,125	8	N.A.	N.A.	N.A.
Ampicilina	≤ 0,015-64	0,125	4	2.295 (83,9)	78 (2,9)	262 (13,3)
Amox/clavulánico	≤ 0,015-8	0,25	1	2.728 (99,7)	0 (0,0)	8 (0,3)
Cefuroxima (oral)	≤ 0,015-16	0,5	1	2.717 (99,3)	17 (0,6)	2 (0,1)
Cefaclor	0,03-16	1	4	2.676 (97,8)	60 (2,2)	0 (0,0)
Cefditoren	≤ 0,015-16	≤ 0,015	≤ 0,015	N.A.	N.A.	N.A.
Cefotaxima	≤ 0,015-8	≤ 0,015	≤ 0,015	2.734 (99,9)	0 (0,0)	2 (0,1)
Eritromicina	≤ 0,015-64	1	4	N.A.	N.A.	N.A.
Claritromicina	≤ 0,015-16	2	4	2.717 (99,3)	19 (0,7)	0 (0,0)
Azitromicina	≤ 0,015-4	0,25	1	2.736 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
Ciprofloxacino	≤ 0,015-4	≤ 0,015	≤ 0,015	2.731 (99,8)	0 (0,0)	5 (0,2)
Levofloxacino	≤ 0,015-8	≤ 0,015	≤ 0,015	2.732 (99,9)	0 (0,0)	4 (0,1)

Conclusiones: La resistencia a metronidazol (41%) es superior a la publicada recientemente en otros trabajos. Fuerte asociación entre fracaso terapéutico y resistencia a claritromicina y metronidazol.

278. SENSIBILIDAD DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* EN ESPAÑA: RESULTADOS DEL PROYECTO SAUCE-4

V. Ausina¹, E. Pérez-Trallero², J.E. Martín-Herrero³, C. García-Dela Fuente⁴, P. Robles⁵, V. Iriarte³, J. García de Lomas⁶, R. Dal-Ré³ y Grupo Español para la Vigilancia de Patógenos Respiratorios

¹Servicio de Microbiología. Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona. ²Servicio de Microbiología. Hospital Donostia. San Sebastián. ³Dto. Médico. GlaxoSmithKline S.A., Tres Cantos. ⁴Servicio de Microbiología. Hospital Marqués de Valdecilla. Santander. ⁵Servicio de Microbiología. Hospital General Universitario de Albacete. ⁶Instituto Valenciano de Microbiología. Valencia.

Introducción: La vigilancia continua de la prevalencia y fenotipos de resistencia de *H. Influenzae* es esencial para un tratamiento empírico adecuado de las infecciones del tracto respiratorio (ITR).

Objetivos: Conocer la sensibilidad en España de *H. Influenzae* a los antibióticos más utilizados en la comunidad.

Material y métodos: Estudio prospectivo y multicéntrico (34 centros) realizado de junio de 2006 a mayo de 2007. En total, 2.736 aislamientos de *H. Influenzae* procedentes de pacientes con ITR comunitaria fueron recogidos y enviados a un laboratorio central para su procesamiento. El estudio de sensibilidad se realizó por método semiautomático de microdilución según las recomendaciones del CLSI en curso y su interpretación según el CLSI M100-S19. La producción de beta-lactamasas (BLA) se determinó por el método de la cefalosporina cromogénica (Cefinas, Nitrocefin[®], BBL). Se consideró una CMI a ampicilina ≥ 2 mg/L para definir las cepas BLA-negativas resistentes a ampicilina (BLNAR).

Resultados: Cuatrocientos veintinueve aislamientos (15,7%) fueron productores de BLA. El porcentaje de cepas productoras de BLA fue ligeramente más alto entre aquellas procedentes de hemocultivos (n = 41) y de exudados óticos (n = 415) que en las procedentes de otras muestras respiratorias (22,0%, 20,2% y 14,8%, respectivamente). Globalmente, 18 aislamientos (0,7%) mostraron un fenotipo BLNAR y 7 (0,3%) fueron productores de BLA y resistentes a amoxicilina/clavulánico (fenotipo BLPACR).

Conclusiones: Se observó un descenso en la resistencia antimicrobiana respecto al último estudio SAUCE (2001-2002). Descenso que afectó tanto a la prevalencia de cepas productoras de BLA como a la resistencia a ampicilina, cefalosporinas orales y claritromicina. La mayor actividad intrínseca la mostraron cefotaxima, cefditoren y las fluoroquinolonas.

279. AISLAMIENTO DE *AEROMONAS CAVIAE* PORTADORA DEL GEN *AAC(6')-IB-CR* Y DE MUTACIONES EN *GYRA* Y *PARC* EN UNA CEPA PROCEDENTE DE UN FRACASO CLÍNICO CON CIPROFLOXACINO

C. Aspiroz¹, E. Ruiz², R. Martínez³, M.J. Figueras⁴, A.I. Alperí⁴, M.J. Aldea¹ y C. Torres²

¹Unidad de Microbiología. Hospital Royo Villanova. Zaragoza. ²Área Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de La Rioja. Logroño.

³Servicio de Medicina Interna. Hospital Royo Villanova. Zaragoza.

⁴Departamento de Ciencias Médicas Básicas. Universidad Rovira i Virgili. Reus. Tarragona.

Introducción/Objetivos: El objetivo del trabajo fue caracterizar los posibles genes involucrados en la resistencia de una cepa de *Aeromonas caviae* responsable de un cuadro diarreico grave en el que fracasó el tratamiento con ciprofloxacino y que alcanzó la curación clínica con ceftriaxona.

Material y métodos: Se aisló *Aeromonas* sp. de las heces de una paciente de 75 años que fue ingresada en Medicina Interna con cuadro diarreico importante con repercusión clínica y analítica. Tras terapia inicial con ciprofloxacino, la paciente no mejoró hasta que la terapia fue sustituida por ceftriaxona, basándose en los resultados del antibiograma. La sensibilidad a los antimicrobianos se realizó por microdilución en caldo (Microscan y Vitek 2) y dilución en agar. Se estudió la presencia de los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CMY}, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA*, *aac* (6')-Ib-cr, *sul1*, *sul2*, *sul3*, y *aac*(3)-II y las mutaciones en *gyrA* y *parC* mediante PCR y secuenciación. Se analizó la presencia de integrones de clase 1 (gen *int1*, región *qac-sul1* y posibles genes *cas*-settes) y de clase 2 (*int2*).

Resultados: La identificación de la especie como *A. caviae* se confirmó mediante el patrón de RFLP del gen rRNA 16S. La cepa fue resistente a ampicilina, amoxicilina-clavulánico, piperacilina-tazobactam, cefazolina, cotrimoxazol, y ácido nalidíxico (256 µg/ml), siendo sensible a gentamicina, tobramicina, amikacina, tetraciclina y cloranfenicol. La CMI de ciprofloxacino fue de 2 µg/ml, y la de cefotaxima, ≤ 1 µg/ml. Se detectaron mutaciones en GyrA (Ser83Ile) y ParC (Ser80Ile), y además se pudo identificar por secuenciación la variante genética *aac* (6')-Ib-cr, que constituye uno de los determinantes de resistencia a quinolonas mediado por plásmidos. Dicha cepa albergaba los genes *bla*_{TEM} y *aac* (3)-II. Se detectó la presencia del gen *int1* aunque la PCR para la región *qac-sul1* fue negativa sugiriendo la posible presencia de un integrón de clase 1 carente de región conservada en 3'. La cepa fue negativa para el resto de genes estudiados.

Conclusiones: La presencia de una doble mutación en GyrA y ParC más el probable efecto aditivo del determinante *aac* (6')-Ib-cr en una cepa de *A. caviae* con repercusión clínica podría justificar el fallo terapéutico de ciprofloxacino. La coexistencia de ambos mecanismos es muy infrecuente en *Aeromonas*, y creemos que es la primera vez que se detecta *aac* (6')-Ib-cr en cepas clínicas, aunque si ha sido descrita antes en cepas ambientales de *Aeromonas* spp.

280. ESTUDIO DE SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE BACTERIAS ANAEROBIAS AISLADAS EN LA CLÍNICA UNIVERSIDAD DE NAVARRA (2003-2008)

M.E. Portillo, G. Reina, A. Aguinaga, C.A. Alonso, A. Pérez-García y J. Leiva

Servicio de Microbiología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona.

Introducción: Las bacterias anaerobias están implicadas en infecciones de origen intraabdominal, orofaríngeo y genital. Este tipo de infecciones son tratadas habitualmente de forma empírica con antiinfecciosos con actividad frente a bacterias aerobias y anaerobias. En este trabajo se pretende describir los perfiles de sensibilidad a antibióticos de los microorganismos anaerobios aislados en nuestro centro en el período 2003-2008.

Material y métodos: Se aislaron en este período de estudio 991 bacterias anaerobias, que fueron identificadas mediante API ID32A. Se estudió la sensibilidad a antimicrobianos de 543 de estas cepas, mediante E-test® en Mueller-Hinton sangre con incubación en anaerobiosis de los siguientes antibióticos: amoxicilina-ácido clavulánico (AMC), clindamicina (CC), ertapenem (ERT) y metronidazol (MTZ). Los resultados de CMI obtenidos fueron interpretados según los criterios del CLSI (M11-A6).

Resultados: Los principales microorganismos anaerobios aislados durante el estudio fueron, *Bacteroides* grupo fragilis (40,5%), *Peptostreptococcus* spp (27,3%), *Prevotella* spp (12,9%) y *Clostridium* (10,7%). La susceptibilidad a AMC de *Bacteroides* grupo fragilis fue del 82,6% (CMI₅₀ 1 µg/mL y CMI₉₀ 8 µg/mL), mientras que el resto de microorganismos mostró una sensibilidad superior al 90%. Los resultados de CC señalaban tres grupos bacterianos con sensibilidad inferior al 70%; *Bacteroides* grupo fragilis 54,6% (CMI₅₀ 1 µg/mL y CMI₉₀ 256 µg/mL), *Clostridium* spp 61,8% (CMI₅₀ 2 µg/mL y CMI₉₀ 16 µg/mL) y *Peptostreptococcus* spp 68,5% (CMI₅₀ 0,25 µg/mL y CMI₉₀ 256 µg/mL). Destacaban las especies *B.thetaiotaomicron* y *B. vulgatus* con una sensibilidad del 37,5% (CMI₅₀ 8 µg/mL y CMI₉₀ 256 µg/mL) y 47,1% (CMI₅₀ 256 µg/mL), respectivamente. Por último ERT mostró cifras de susceptibilidad superior al 90% para todas las bacterias estudiadas, excepto *Bacteroides* grupo fragilis 89,5% (CMI₅₀ 0,5 µg/mL y CMI₉₀ 8 µg/mL).

Conclusiones: Se observan unas cifras de sensibilidad elevadas a todos los antibióticos estudiados, excepto clindamicina. Ertapenem es un fármaco frecuentemente utilizado como terapia empírica en infecciones intraabdominales, con gran actividad frente a estas bacterias.

281. TIGECICLINA. ESTUDIO DE SENSIBILIDAD EN BACTERIAS ANAEROBIAS

D. Velasco, G. Bou, P. Rodríguez, C. Fontecoba y R.Villanueva

Servicio de Microbiología y Parasitología. CHU. A Coruña.

Introducción: La tigeciclina es primer representante de una nueva clase de antibióticos, las glicilciclinas, derivados modificados de las tetraciclinas. Es activa frente a gran cantidad de bacterias gram positivas y gram negativas, tanto aerobias como anaerobias incluyendo microorganismos multiresistentes. Debido a su amplio espectro es especialmente útil en infecciones mixtas. Ha sido aprobada para el tratamiento de infecciones moderadas o severas de la piel y partes blandas, así como para infecciones abdominales complicadas. Aunque presentan buena actividad frente a bacterias anaerobias ya se han descrito cepas resistentes.

Objetivos: Determinar la sensibilidad a tigeciclina de los aislamientos de bacterias anaerobias responsables de infecciones graves en nuestro centro sanitario. Estudiar el mecanismo de resistencia a tigeciclina de las cepas de anaerobios con resistencia intermedia o completa.

Material y métodos: Se seleccionaron 102 cepas de anaerobios responsables de infecciones graves aisladas en el CHU A Coruña duran-

	Rango (µg/ml)	CMI ₅₀ (µg/ml)	CMI ₉₀ (µg/ml)	Sensibles (CMI ≤ 2 µg/ml)	Intermedias CMI (4 µg/ml)	Resistentes (CMI > 4 µg/ml)
Total (102)	< 0,01-8	0,25	2	96,0%	2,0%	2,0%
Sangre (78)	< 0,01-8	0,25	2	94,8%	2,06%	2,6%
No sangre (24)	< 0,01-4	0,12	1	100%	0%	0%
B. grupo frag (49)	0,06-8	0,5	2	91,8%	4,1%	4,1%
<i>Clostridium</i> spp (25)	< 0,01-4	0,06	2	100%	0%	0%
Otros BGN anaer (19)	< 0,01-0,12	0,01	0,12	100%	0%	0%
CGP anaer (10)	< 0,01-0,12	0,03	0,06	100%	0%	0%

te los años 2007 y 2008, de las que 78 correspondieron a bacteriemias. Como control se utilizó la cepa de referencia *B. fragilis* ATCC 25285. La identificación a nivel de especie se realizó mediante el sistema Api 32A (Biomerieux). Determinación de CMIs mediante E-test con inóculo de 1 McF en agua destilada y 200 µl sobre placas de agar brucella suplementadas con vit K. Incubación en anaerobiosis y lectura de CMIs a las 24 y 48 horas de incubación considerando todo tipo de crecimiento (100% de inhibición). Estudio del mecanismo de resistencia por comparación de la CMI a tigeciclina en presencia y en ausencia de Phe-Arg β-naftilamida dihidroclorídrico (PAN), un inhibidor de bombas de flujo a concentración final de 25 µg/ml.

Resultados: La tabla refleja los resultados obtenidos a las 48 horas de incubación. Los resultados a las 24 horas de las cepas en las que se observó crecimiento discernible son plenamente superponibles. La CMI de la cepa control se encontraba en los rangos establecidos. La adición de PAN al medio de cultivo produjo un descenso de la CMI en las cepas resistentes del orden de cuatro diluciones dobles alcanzando niveles de sensibilidad.

Conclusiones: La tigeciclina presenta excelente actividad *in vitro* frente a aislamientos de bacterias anaerobias responsables de infecciones graves en nuestro centro sanitario. Las cepas con resistencia intermedia y completa pertenecen a *Bacteroides* del grupo *fragilis* responsables de bacteriemias. *Clostridium perfringens* presenta CMIs mayores al resto de especies del género *Clostridium* aunque sin alcanzar niveles de resistencia. La determinación de CMIs a las 24 horas de incubación no altera los resultados obtenidos a las 48 horas y puede adelantar los resultados. El transporte de antibiótico a través de bombas de flujo es un mecanismo implicado en la resistencia de *Bacteroides* grupo *fragilis* a la tigeciclina.

282. SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE N. GONORRHOEAE EN EL H.U. DE LA PRINCESA. MADRID

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

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

Objetivos: Estudio de las resistencias y su evolución en los tres últimos años de *N. gonorrhoeae* obtenidos de muestras genitales según protocolos estándar en el Hospital Universitario de la Princesa de Madrid, España.

Métodos: Ciento ocho aislamientos de *N. gonorrhoeae* fueron obtenidos siguiendo protocolos estándar en los pacientes con clínica compatible con la gonococia. Se sembraron en agar sangre, agar chocolate enriquecido y agar Thayer-Martin y se realizó la tinción Gram en todas las muestras. Se incubaron hasta 48 h. en atmósfera aeróbica y en atmósfera 5-7% de CO₂. Crecieron las colonias esperadas en chocolate y en TM. Identificaciones a nivel de especie por: HNID de Dade MicroScan, RapID NH de Remel y/o ApiNH de Biomerieux. El antibiogra-

Antibiótico	Año	N	S	% S	I	%I	R	% R	Año	% R a 2 antibióticos	% R a 3 antibióticos	% R a 4 antibióticos
Penicilina	2006	35	20	46,51	7	17,23	8	16,60	2	13,95	16,27	
	2007	34	23	63,89	3	8,33	8	22,22	0			
	2008	25	19	67,86	4	14,28	2	7,14	0			
Ceftriaxona	2006	36	36	100	0	0	0	0	6			
	2007	36	36	100	0	0	0	0				
	2008	36	36	100	0	0	0	0	2	8,33	13,89	2,78
Ciprofloxacino	2006	39	20	51,20	19	48,72	0	0	0			
	2007	36	19	52,78	15	41,67	2	5,56	0			
	2008	26	13	50	13	50	0	0	7			
Espectinomicina	2006	15	15	100	0	0	0	0				
	2007	32	31	96,87	0	0	1	2,78	2	14,28	14,28	
	2008	17	17	100	0	0	0	0	0			
Tetraciclinas	2006	35	17	39,53	1	2,32	17	39,53	0			
	2007	35	24	66,67	1	2,78	10	27,78	8			
	2008	26	19	67,86	1	3,57	6	21,42				

ma: por método de difusión en disco en agar chocolate incubando en atmósfera de CO₂ ensayándose con: penicilina, ceftriaxona, ciprofloxacino, espectinomicina y tetraciclinas y fueron consultadas las guías CLSI para Microorganismos Fastidiosos.

Resultados: *Se consideran dentro de las multiresistencias a las cepas de sensibilidad intermedia.

Disminución de las resistencias para penicilina pasando de 16,60% en 2006 a 7,14 en el 2008 y, por consiguiente, aumento de la sensibilidad, pasando de 46,51% en el 2006 a 67,86% en el 2008. Ceftriaxona: sensibilidad elevada no encontrándose ninguna cepa resistente. Ciprofloxacino: prácticamente inalterado en estos tres últimos años. Elevada proporción de cepas con sensibilidad intermedia: de 48,72% en el 2006 a 50% en el 2008. Espectinomicina: fuerte inflexión en su sensibilidad pasando de 34,88% en el año 2006 a 86,11% en el 2007 cayendo nuevamente en el 2008 hasta una sensibilidad del 60,71%. Tetraciclinas: de las muestras ensayadas sólo se ha encontrado una cepa resistente. Multiresistencias: A dos, tres y cuatro antibióticos. Se aprecia un ligero aumento (ver tabla)

Conclusiones: Según los datos obtenidos y revisando estudios anteriores en este Servicio: La ceftriaxona sigue siendo el antibiótico de elección en la infección gonocócica. La penicilina, tetraciclinas y ciprofloxacino presentan alta proporción de resistencia o de sensibilidad intermedia, por lo que no se recomienda su uso en nuestra área.

283. ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD A DESINFECTANTES DE *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* EN BIOFILM Y FASE PLANCTÓNICA

M.E. Portillo, G. Reina, A. Aguinaga, M. Fernández-Alonso y J. Leiva
Servicio de Microbiología Clínica. Clínica Universidad de Navarra.

Introducción y objetivos: La legionelosis está causada por especies de *Legionella* adquiridas de fuentes ambientales donde crecen intracelularmente y formando biofilms. A pesar de los tratamientos preventivos en instalaciones de agua, *Legionella spp.* persiste en ellos provocando brotes de legionelosis. El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad de desinfectantes frente a *Legionella pneumophila* tanto en fase de crecimiento planctónico como en biofilms.

Material y métodos: Se estudió la sensibilidad de 6 cepas de *L. pneumophila* (3 ambientales, 2 clínicas y una cepa de referencia ATCC33152) en las dos fases de crecimiento frente a 3 desinfectantes (hipoclorito sódico, cloramina T trihidrato y cloruro de benzalconio.) Para el estudio de susceptibilidad en fase planctónica se realizaron diluciones dobles seriadas (1-2000 ppm) de los desinfectantes y se estableció un tiempo de contacto de 48 horas. Se utilizó un ensayo de susceptibilidad de biofilms (Moskowitz et al. JCM 2004) generando biofilms de 5 días. Se realizaron diluciones dobles seriadas de hipoclorito sódico (25-52000 ppm), cloramina T trihidrato (75-150000 ppm) y cloruro de benzalconio (100-200000 ppm) y se estableció un

tiempo de contacto de 48 horas. Para ambas fases (biofilm, b; planctónica, p) se utilizó el medio líquido BYE. Se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) por turbidez. Las concentraciones mínimas bactericidas (CMB) y las concentraciones mínimas erradicadoras (CME) se determinaron cuantificando el número de bacterias viables realizando recuentos en medio BCYE.

Resultados: Los rangos de CMib/CMip, CMBb/CMBp y CMEb/CMEp para cloramina T trihidrato fueron 2-16, 1-2 y 1-4 respectivamente; para el hipoclorito sódico fueron 1-2, 1 y 1 respectivamente. El cloruro de benzalconio presentó unos valores de CMI, CMB y CME inferiores a la menor concentración utilizada en ambas fases.

Conclusiones: El hipoclorito sódico, la cloramina T trihidrato y el cloruro de benzalconio son desinfectantes eficaces frente a *L. pneumophila* tanto en fase planctónica como en biofilms, siendo el cloruro de benzalconio el más eficaz de los estudiados.

284. SENSIBILIDAD DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* EN ESPAÑA: RESULTADOS DEL PROYECTO SAUCE-4

E. Pérez-Trallero¹, C. García-Delafuente², J.E. Martín-Herrero³, X. Beristain⁴, A. Fleites⁵, V. Iriarte³, J. García de Lomas⁵, R. Dal-Ré³ y Grupo Español para la Vigilancia de Patógenos Respiratorios

¹Servicio de Microbiología. Hospital Donostia. San Sebastián. ²Servicio de Microbiología. H. Marqués de Valdecilla. Santander. ³Dto. Médico. GlaxoSmithKline S.A., Tres Cantos. ⁴Servicio de Microbiología. Hospital Virgen del Camino. Pamplona. ⁵Servicio de Microbiología. Hospital Central de Asturias. Instituto Valenciano de Microbiología. Valencia.

Introducción: La vigilancia continua de la prevalencia y fenotipos de resistencia de *S. pyogenes* es determinante en el tratamiento empírico de las infecciones producidas por esta bacteria.

Objetivos: Conocer la sensibilidad en España de *S. pyogenes*.

Material y métodos: Estudio prospectivo y multicéntrico (34 centros) realizado de junio de 2006 a mayo de 2007. En total, 2.287 aislamientos de *S. pyogenes* procedentes de exudados orofaríngeos en pacientes con infección respiratoria adquirida en la comunidad fueron recogidos y enviados a un laboratorio central para posterior procesamiento. El estudio de sensibilidad se realizó por método semiautomático de microdilución según las recomendaciones del CLSI en curso y su interpretación según el CLSI (M7-A8 y M100-S19). El serogrupo A fue determinado mediante inmunoaglutinación con látex (Streptex, Murex Diagnostics). En cepas resistentes a eritromicina (CMI³ 0,5 mg/L) se estudió el fenotipo por el método de la doble difusión en disco.

Resultados: El 64,5% (287/445) de los aislados no sensibles a eritromicina presentaron un fenotipo M de resistencia y el 35,5% (158/445) un fenotipo MLS_B (150 cepas constitutivo y 8 cepas inducible).

Conclusiones: En comparación con el último estudio SAUCE (2001-2002), se observó una ligera disminución de la prevalencia de resis-

Antibiótico	(mg/mL)	N (%) de aislados				
	CMI rango	CMI ₅₀	CMI ₉₀	Sensible	Intermedia	Resistente
Penicilina	≤ 0,015-0,125	≤ 0,015	≤ 0,015	2.287 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
Ampicilina	≤ 0,015-0,25	≤ 0,015	≤ 0,015	2.287 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
Amox/Cla	≤ 0,015-0,25	≤ 0,015	≤ 0,015	N.A.	N.A.	N.A.
Cefuroxima	≤ 0,015-0,25	≤ 0,015	≤ 0,015	N.A.	N.A.	N.A.
Cefaclor	≤ 0,015-0,25	0,03	0,06	N.A.	N.A.	N.A.
Cefditoren	≤ 0,015-0,125	≤ 0,015	≤ 0,015	N.A.	N.A.	N.A.
Cefotaxima	≤ 0,015-0,25	≤ 0,015	≤ 0,015	2.287 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
Eritromicina	≤ 0,015- > 128	≤ 0,015	2	1.842 (80,6)	10 (0,4)	435 (19,0)
Claritromicina	≤ 0,015 - >128	≤ 0,015	2	1.849 (80,9)	60 (2,6)	378 (16,5)
Azitromicina	≤ 0,015- > 128	≤ 0,015	2	1.854 (81,1)	167 (7,3)	266 (11,6)
Ciprofloxacino	0,03-4	0,06	0,125	N.A.	N.A.	N.A.
Levofloxacino	0,03-1	0,125	0,25	2.287 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)

N.A.: No aplicable

tencia a eritromicina. Todas las cepas fueron sensibles a levofloxacino, siendo excepcionales las cepas con CMI a ciprofloxacino > 1 mg/L, lo que sugiere que la resistencia de bajo nivel a fluoroquinolonas, ha disminuido o se ha mantenido en las bajas cifras presentes en otras ediciones del SAUCE. Entre las cepas resistentes a eritromicina, se observó un importante incremento del fenotipo MLS_B compensado con el gran descenso del fenotipo M.

285. CIRCULACIÓN DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* CON MULTIRRESISTENCIA. PREVALENCIA Y VARIABILIDAD ANUAL DE LOS PRINCIPALES CLONES DURANTE 9 AÑOS DE ESTUDIO

M. Montes^{1,2}, E. Tamayo¹, B. Orden³, R. Martínez-Ruiz³, J.M. García-Arenzana¹ y E. Pérez-Trallero^{1,2}

¹Servicio Microbiología. Hospital Donostia. San Sebastián. ²Servicio de Microbiología. CIBERES. ³Servicio de Microbiología. Centro de Especialidades Argüelles. Madrid.

Objetivos: Conocer la presencia y dinámica de difusión de clones de *S. pyogenes* con multiresistencia (resistencia a 3 o más grupos de antimicrobianos) entre la población general de Madrid y San Sebastián entre enero 1999 y diciembre 2007.

Material y métodos: Los aislamientos multiresistentes se estudiaron mediante T-tipo, *emm*-tipo y ocasional PFGE. En los clones principales se completó la caracterización por MLST y los genes de resistencia (*ermB*, *ermA* [TR], *tetO*, *tetM*) por PCR. El estudio de sensibilidad se realizó por microdilución según las recomendaciones del CLSI en curso y su interpretación según el CLSI M100-S19.

Resultados: Entre 24.550 aislamientos estudiados se detectaron 1.794 con multiresistencia. Ningún aislamiento con fenotipo M o sensible a macrólidos mostró multiresistencia. Entre las 1.794 cepas detectadas (todas fenotipo MLS_B), 1.051 se estudiaron en profundidad (el 55,4% obtenidas en San Sebastián y las restantes en Madrid). Se detectaron 20 *emm*-tipo diferentes, agrupando 3 de ellos (*emm11*T11, *emm28*/T28 y *emm22*/T12) al 91,3% (960/1051) de los aislamientos estudiados. Once *emm*-tipos, que agruparon al 96,8% de los aislamientos, estuvieron incluidos en la vacuna 26-valente. El 91,4% de los aislamientos fueron resistentes a 4 grupos de antimicrobianos: macrólidos, lincosamidas, estreptogramina B, y tetraciclinas o bacitracina. La resistencia a quinolonas no se asoció a multiresistencia. 1) El complejo clonal *emm11*/T11/ST403-ST20-ST21 fue el más abundante (596 aislamientos), detectándose por primera vez en 2002, estando posteriormente presente todos los años y siendo el clon predominante durante 2003-2005. El 95,5% de sus cepas fueron resistentes a tetraciclinas (gen *tetM*). 2) El clon *emm28*/T28/ST52 mostró la peculiaridad de dividirse en dos subclones: uno bacitracina-S, tetraciclina-R (36 aislamientos) y otro bacitracina-R, tetraciclina-S (260 aislamientos). El subclon bacitracina-R se detectó por pri-

mera vez en 1999, incrementando su presencia a partir de entonces. 3) El clon *emm22*/T12/ST46 estuvo presente todos los años del estudio (rango 2-12 aislamientos/año). El 60,6% (40/66) de las cepas albergaron el gen *ermA* (TR) y todas ellas fueron sensibles a tetraciclinas. Las restantes mostraron el gen *ermB* y 12 de ellas fueron tetraciclina-R mediada por el gen *tetM*.

Conclusión: La mayor o menor prevalencia de resistencia en una región depende de los clones circulantes en ese momento. Los aislamientos multiresistentes se concentraron en unos pocos clones y la mayoría de ellos fueron resistentes a antibióticos de 4 grupos diferentes. Más del 95% de los aislamientos multiresistentes estuvieron representados en la vacuna 26-valente.

Agradecimiento: FIS PI050181.

286. ¿HA AUMENTADO LA RESISTENCIA A PENICILINA EN LOS ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO *VIRIDANS* PRODUCTORES DE ENDOCARDITIS INFECCIOSA?

C. Manzano-Badía¹, F.J. Martínez-Marcos¹, J.M. Lomas-Cabezas¹, A. de Alarcón², A. Plata³, J.M. Reguera³, R. Ivanova⁴, J. Ruiz⁴, M. Nourredine⁵, J. de la Torre⁵, J. Gálvez⁶, C. Hidalgo Tenorio⁷, por el Grupo Andaluz para el Estudio de las Infecciones Cardiovasculares de la SAEI

¹Servicio de Medicina Interna. H. Juan Ramón Jiménez. ²Servicio de Medicina Interna. H.U. Virgen del Rocío. ³Servicio de Medicina Interna. H.U. Carlos Haya. ⁴Servicio de Medicina Interna. H.U. Virgen de la Victoria. ⁵Servicio de Medicina Interna. H. Costa del Sol. ⁶Servicio de Medicina Interna. H.U. Virgen Macarena. ⁷Servicio de Medicina Interna. H.U. Virgen de las Nieves.

Introducción: La CMI de la penicilina para los estreptococo del grupo viridans (EGV) ha ido aumentando a lo largo de los años.

Objetivos: Analizar si el aumento de dicha CMI ha influido en la mortalidad de la endocarditis izquierda (EI) producida por EGV.

Material y métodos: Se incluyeron todos los episodios de EI por EGV de la base de datos del Grupo para el Estudio de las Infecciones Cardiovasculares de la SAEI. Se analizó el cambio en el porcentaje de mortalidad en el ingreso de la EI por EGV en dos periodos diferentes: 1984-2000 y 2001-2007. Se analizó además el cambio, a lo largo del tiempo, de las variables edad, Índice de Charlson, comorbilidad y CMI de la penicilina. Las comparaciones estadísticas se realizaron mediante los test estadísticos habituales con el programa SPSS.

Resultados: De un total de 877 episodios de EI, los EGV fueron los patógenos responsables en 187 de ellos (21,3%). Los porcentajes de cepas de EGV con CMI a penicilina < = 0,12 mg/l, CMI > 0,12- < = 0,5 mg/l y CMI > 0,5 mg/l fueron 67%, 11% y 12% respectivamente. La mortalidad en el primer periodo fue del 7,4% frente al 16,1% en el segundo periodo (p = 0,065). En el segundo periodo los pacientes con

El por EGV tuvieron una mayor edad (58 vs 47 años $p = 0,001$), un mayor porcentaje de enfermedad debilitante previa (57% vs 39,4% $p = 0,015$) y una mayor puntuación en el Índice de Charlson (1,92 vs 1,25 puntos; $p = 0,04$). La CMI media de la penicilina aumento sólo de forma discreta en el segundo periodo, pasando de 0,25 a 0,34 ($p = 0,46$). El porcentaje de cepas con CMI mayor de 0,5 mg/l aumento del 8,9% al 17,8% en el segundo periodo ($p = 0,21$). No hubo una asociación estadística entre la CMI de la penicilina y la mortalidad (0,36 mg/l en los que murieron vs 0,28 mg/l en los que sobrevivieron; $p = 0,6$)

Conclusiones: La mortalidad de la EI por EGV ha aumentado a más del doble en los últimos años, posiblemente en relación con un aumento de la edad y comorbilidad de los pacientes. Si bien el porcentaje de cepas de EGV productoras de endocarditis con CMI de penicilina mayor de 0,5 mg/l ha aumentado también al doble, la media de dicha CMI ha aumentado sólo ligeramente. No hemos encontrado relación entre CMI y mortalidad.

287. *CORYNEBACTERIUM STRIATUM*: MICROORGANISMO OPORTUNISTA MULTIRRESISTENTE EMERGENTE

A. Sánchez¹, M.D. Martín¹, J. Valverde², J. Fernández², C. Campelo¹, M.J. Uría¹, I. Buhigas¹ y A. Delgado-Iribarren^{1,2}

¹Unidad de Microbiología. Red de Nuevos Hospitales de Madrid.

²Unidad de Microbiología. Hospital Universitario Fundación de Alcorcón.

Introducción: *Corynebacterium striatum* se relaciona con infecciones oportunistas, fundamentalmente en el ámbito hospitalario, y en pacientes inmunocomprometidos (diabéticos, pacientes oncológicos o con enfermedades pulmonares).

Material y métodos: Revisión retrospectiva de los aislados significativos de *C. striatum* desde 1/01/2006 a noviembre de 2008, en el Hospital Universitario Fundación de Alcorcón, cuyo laboratorio atiende a una población de 250.000 habitantes, y de 1.300.000 desde la centralización de los laboratorios de los 6 nuevos hospitales de Madrid en febrero de 2008. El antibiograma se realizó mediante difusión disco-placa, en MH sangre y siguiendo las recomendaciones del CLSI. En el estudio de sensibilidad se incluye un aislamiento por paciente.

Resultados: Se aislaron 58 *C. striatum* (11 en 2006, 14 en 2007 y 33 en 2008), de 27 pacientes, 30 procedentes de muestras respiratorias, 8 exudados de orificio de catéter de diálisis, 5 hemocultivos, 4 líquidos de diálisis, 2 líquidos peritoneales, 4 úlceras por presión, 3 exudados óticos y 2 orinas. La mediana de edad de los pacientes fue de 71 años. De los 27 pacientes, 5 estaban ingresados en la UVI, 4 procedían del servicio de Nefrología, 3 de Oncología y 5 de Neumología. El porcentaje de sensibilidad a los antibióticos estudiados fue el siguiente: 66,6% de sensibilidad a penicilina y gentamicina, 18,5% a cotrimoxazol, 14,8% a ciprofloxacino. Solamente un aislamiento (3,7%), en dos muestras de exudado ótico de un niño, fue sensible a eritromicina y clindamicina. El 100% de los aislados fue sensible a vancomicina.

Conclusiones: La presencia de *C. striatum* en muestras clínicas debe valorarse de forma significativa, ya que está implicado en infección respiratoria nosocomial, principalmente en pacientes de UVI, pacientes con patología respiratoria, y en infecciones relacionadas con catéter en pacientes de diálisis. La elevada resistencia a beta-lactámicos, quinolonas, macrólidos, lincosaminas y cotrimoxazol justifica una terapia empírica con glucopéptidos.

Sesión 20:

Stenotrophomonas maltophilia. Otros

288. SENSIBILIDAD IN VITRO A 11 ANTIBIÓTICOS DE AISLADOS DE *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*

A. Rosingh, G. Fagúndez y M. Gobernado

Servicio de Microbiología y Parasitología. Hospital Universitario La Fe. Valencia.

Objetivo: Mostrar la actividad actualizada de 11 antibióticos frente a *Stenotrophomonas maltophilia* aisladas en un hospital terciario. Esta bacteria se considera como patógeno multiresistente, por resistencia intrínseca o adquirida, emergente.

Material y métodos: Se investigaron 177 muestras con significación clínica (neumonía en enfermos ingresados en unidades de cuidados intensivos, mucoviscidosis, infecciones neonatales y oncología) de nuestro hospital. Se probó la sensibilidad in vitro por métodos difusión en agar (discos de Rosco y criterios del CLSI), automático (Vitek-2) y confirmación con E-test en casos dudosos. Hemos probado la sensibilidad a los siguientes antimicrobianos: ceftazidima, cefepima, aztreonam, ciprofloxacina, piperacilina-tazobactam, imipenem, trimetoprim-sulfametoxazol, ampicacina, tobramicina, colistina y tigeciclina.

Resultados: Pueden verse en la tabla.

Conclusiones: Como era de esperar cotrimoxazol resultó el antimicrobiano más activo, con un tercio de los aislados resistentes a ciprofloxacino, tigeciclina y colistina, la mitad a ceftazidima e imipenem, y más del 80% a los aminoglucósidos. Con estos datos de actividad se decidió tanto la terapia antibiótica empírica como la dirigida, siempre en combinación.

Pd: El análisis de datos procede de de Hospital La Fe, la información corresponde a la base de datos del programa SIGEM del Servicio de Microbiología.

289. BACTERIEMIA POR *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*: ESTUDIO CLÍNICO Y EVOLUTIVO DE 35 CASOS

V. Pintado, F. Guerrero, E. Loza¹, J.M. Rodríguez-Fernández, P. Martín-Dávila, J. Cobo, J. Fortún y S. Moreno

Servicios de Enfermedades Infecciosas y ¹Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: *Stenotrophomonas maltophilia* es un microorganismo de creciente importancia en el medio hospitalario. Su patrón habitual de resistencia a antibióticos condiciona que el tratamiento empírico sea con frecuencia inadecuado. Se describen las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de 35 casos de bacteriemia por *S. maltophilia* (BSM) en un hospital terciario.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de casos de BSM durante 5 años (2004-2008). Se estudiaron los factores de riesgo, tipo de infección, respuesta al tratamiento y evolución.

Resultados: Se detectaron 35 episodios de BSM. 60% pacientes eran varones (2 niños) con edad media de 56 años (5-83); 97% de las infecciones fueron nosocomiales (63% en UCIs). La mayoría de pacien-

Tabla 1
Resistencias de *Stenotrophomonas maltophilia* a 11 antibióticos

	%		%
Ceftazidima	51,4	Ciprofloxacino	32,2
Cefepima	66,7	Amicacina	80
Aztreonam	100	Tobramicina	86,3
Piperacilina/tazo	46,6	Colistina	30,3
Imipenem	50	Tigeciclina	33,3
Cotrimoxazol	6,2		