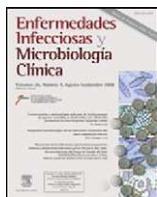


Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Formación médica continuada: Infección nosocomial. Fundamentos y actuación clínica

El laboratorio de Microbiología en la vigilancia y el control de las infecciones nosocomiales[☆]

Lorena López-Cerero*, Felipe Fernández-Cuenca y Alvaro Pascual

Unidad de Gestión Clínica de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 5 de octubre de 2012

Aceptado el 8 de octubre de 2012

On-line el 6 de diciembre de 2012

Palabras clave:

Laboratorio

Microbiología

Infección nosocomial

Vigilancia y control

RESUMEN

Las actividades más relevantes del microbiólogo y del laboratorio de Microbiología en relación con la vigilancia y el control de la infección nosocomial (IN) se centran principalmente en la obtención, el análisis y la gestión de la información microbiológica obtenida en el laboratorio; el diseño, el desarrollo y la validación de técnicas microbiológicas, sobre todo técnicas rápidas, para la detección precoz de patógenos nosocomiales, particularmente los multirresistentes, y el estudio de la relación genética que existe entre ellos; colaborar en el diseño de programas de prevención y la evaluación de su impacto; colaborar en la formación en temas relacionados con la IN, y gestionar los recursos del laboratorio y de comunicación con los sistemas informáticos del hospital.

Entre las herramientas más idóneas o rentables en el control de la IN se encuentran la correcta identificación a nivel de especie de patógenos nosocomiales relevantes, el análisis de la evolución de las resistencias a antimicrobianos, la monitorización de microorganismos centinela, la vigilancia activa de portadores, y los estudios de epidemiología molecular (tipificación). La tipificación de forma prospectiva de estos patógenos, que se ha conseguido gracias a los avances en la tecnología y la difusión de las técnicas moleculares, tiene un impacto directo en el diseño de intervenciones de control y prevención. Para obtener la máxima rentabilidad con todas estas herramientas es imprescindible disponer de una estrategia de comunicación y de alerta eficaz.

© 2012 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

The Microbiology laboratory in nosocomial infection surveillance and control

ABSTRACT

The most relevant activities of clinical microbiologist and the laboratory in the surveillance and the control of nosocomial infections (NI) are mainly focused on the collection, analysis and management of the information obtained in the Microbiology Laboratory; the design, development and validation of microbiological techniques, particularly rapid tests for the early detection of nosocomial pathogens, especially those multi-drug resistant ones, and the study of the genetic relationship between them. It also assists in the design of specific programs for the prevention of the NI, and the evaluation of their impact, as well as taking part in educational and training programs on topics related to NI. The management of laboratory resources, and communications with hospital information systems is also important.

The most suitable tools for the control of NI include the correct identification at the species level of relevant nosocomial pathogens, analysis of the evolution of resistance to antimicrobials, monitoring sentinel organisms, active surveillance of carriers, and molecular epidemiology studies (genotyping). Prospectively typing of these pathogens, which has been achieved through advances in technology, and dissemination of molecular techniques, have a direct impact on the design of prevention and control interventions. To achieve the maximum performance with all these tools, it is essential to have a good communication strategy and an effective alert system.

© 2012 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Laboratory

Microbiology

Nosocomial infection

Surveillance and control

☆ Nota: sección acreditada por el Consell Català de Formació Continuada de les Professions Sanitàries. Consultar preguntas de cada artículo en: <http://www.elsevier.es/eimc/formacion>

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: llopez@us.es (L. López-Cerero).

Papel del microbiólogo y del laboratorio de Microbiología en la vigilancia y el control de la infección nosocomial

Los laboratorios de Microbiología Clínica participan de forma relevante, junto con otros profesionales, en la vigilancia y el control de la infección nosocomial (IN). Los microbiólogos están integrados en los equipos de control de IN y contribuyen a la toma de decisiones. Las competencias del laboratorio incluyen todas las fases del proceso: 1) gestión de la información generada de los resultados microbiológicos, así como de su análisis y comprobación, constituyendo el primer eslabón en la detección de la transmisión nosocomial; 2) diseño, desarrollo y validación de las técnicas microbiológicas necesarias para la detección precoz de patógenos nosocomiales y la comparación entre aislados; 3) participación en el diseño de intervenciones y programas de prevención, así como evaluación mediante controles microbiológicos del impacto de medidas; 4) colaboración en los programas de educación y de formación relacionados con la IN.

Dos aspectos importantes que cobran cada vez más protagonismo dentro de las funciones del microbiólogo son la responsabilidad sobre la utilización de recursos sanitarios y los sistemas de gestión de la comunicación. Las nuevas técnicas que se están aplicando en la actualidad para el estudio de la transmisión de patógenos proporcionan una información más detallada que permite una mejor toma de decisiones, pero van acompañadas de un alto coste económico y, además, requieren una mayor especialización. Por este motivo, es aconsejable el desarrollo de varios niveles de actuación en este campo en función del tamaño del hospital y del personal disponible (fig. 1). Por otra parte, el conocimiento que se ha alcanzado de la epidemiología de los patógenos nosocomiales, donde empezamos a descubrir que unos pocos grupos clonales son los responsables de la mayoría de los brotes en varios países, muestra que el control de la IN ha dejado de ser posible como un programa local de un hospital y que las intervenciones deben tener en cuenta la colaboración entre laboratorios. Esta colaboración puede ser en varios sentidos: 1) en el que los laboratorios con mayor experiencia técnica pueden servir de referencia a laboratorios de menor tamaño y dotación, con el requisito de proporcionar

información en un tiempo que permita el diseño de intervenciones; y 2) en el establecimiento de redes de colaboración entre laboratorios de referencia para programas de estandarización y desarrollo de sistemas informáticos que permitan la monitorización de patógenos con alta capacidad de diseminación. Por último, el microbiólogo participa en las decisiones relativas a los procedimientos de información y de alerta tanto con el equipo de IN como con los sistemas de gestión de la información dentro del hospital.

Análisis de la evolución de resistencias

El análisis de tendencias de perfiles de sensibilidad es una de las herramientas fundamentales en el control de la IN, pero también para diseñar actuaciones en el programa local de uso adecuado de antibióticos. Constituye una de las principales funciones del microbiólogo en la Comisión de Infecciones. Este análisis se realiza mediante un informe acumulado o agregado de sensibilidad bacteriana a los antibióticos. Existen diferentes estrategias para realizar dicho informe, pero es conveniente observar las recomendaciones de documentos de consenso internacionales, entre los que destaca el de la Sociedad Europea de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica¹ publicado en 2004, y el documento del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) publicado en 2006 (M39-A2) y revisado en 2009². El objetivo principal de estos documentos era evitar sobredimensionar los porcentajes de resistencia y establecer criterios comunes con fines comparativos entre instituciones y a lo largo del tiempo. Un resumen de estas recomendaciones se muestra en las tablas 1 y 2.

Una correcta identificación bacteriana a nivel de especie es muy importante, tanto por las implicaciones epidemiológicas (*Klebsiella pneumoniae* tiene mayor capacidad de diseminación que la que se observa en *Escherichia coli*, por ejemplo), el significado clínico del aislado, como por la inadecuada interpretación de mecanismos de resistencia con trascendencia en la IN. Un ejemplo claro de la importancia de la correcta identificación de especies es el género *Enterococcus* y la resistencia a glucopéptidos: las especies *faecalis* y *faecium* pueden ser resistentes por la adquisición de plásmidos

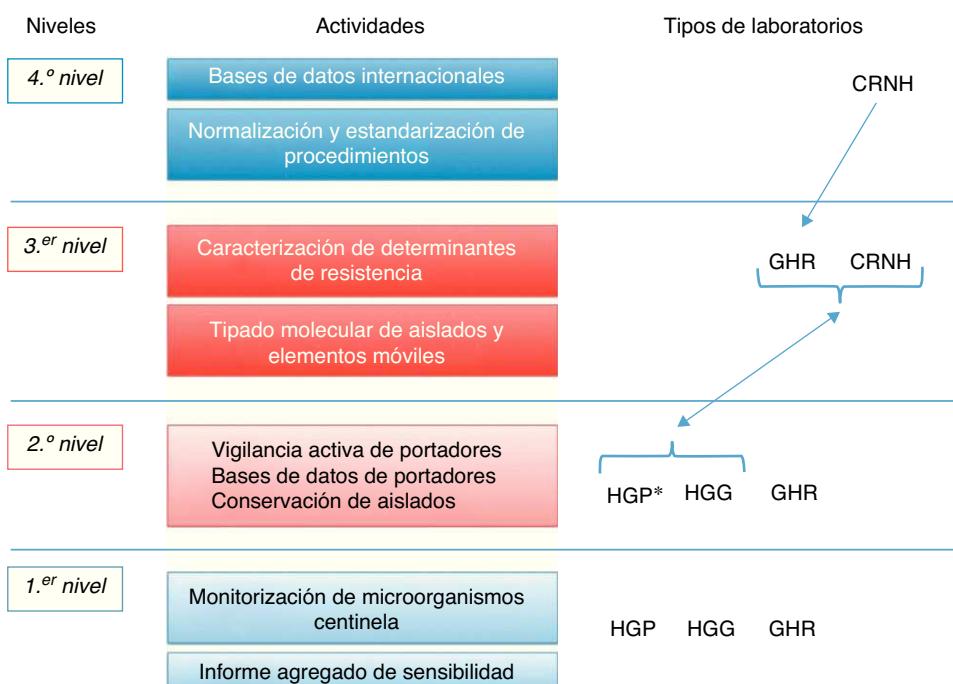


Figura 1. Niveles de las actividades del laboratorio de Microbiología en el control de la infección nosocomial. CRNH: centros de referencia no hospitalarios; GHR: grandes hospitales de referencia; HGG: hospitales generales grandes; HGP: hospitales generales pequeños. *Al menos en situaciones de brotes.

Tabla 1

Recomendaciones generales para elaborar el informe acumulado de sensibilidad antimicrobiana

1. Realizarlo y presentarlo por lo menos una vez al año
2. Incluir especies con al menos > 30 aislados/año
3. Para calcular los porcentajes de resistencia, utilizar los puntos de corte vigentes ese año y analizar el impacto de los cambios introducidos en los comentarios del informe
4. Incluir solo resultados de muestras clínicas (descartar los resultados de colonización o de vigilancia)
5. Incluir solo el primer aislado de cada paciente
6. Incluir solo los resultados de antibióticos que se informan de forma rutinaria, descartar los que se utilizan para identificación o para detección de fenotipos de resistencia
7. Calcular el porcentaje de sensibles y descartar el porcentaje de aislados con sensibilidad intermedia

Tabla 2

Recomendaciones específicas para la elaboración del informe acumulado de susceptibilidad antimicrobiana

Microorganismo	Recomendación
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Calcular el porcentaje de sensibles y con sensibilidad intermedia a la penicilina • Calcular el porcentaje de sensibles a la cefotaxima/ceftriaxona usando los puntos de corte para meningitis y para cuadros no meníngeos
Estreptococos gr. <i>viridans</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Calcular el porcentaje de sensibles y con sensibilidad intermedia a la penicilina
<i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Calcular los porcentajes de sensibilidad de forma separada en el subgrupo de aislados resistentes a la meticilina

Modificado de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)².

que se diseminan en instituciones sanitarias, pero otras especies, como *gallinarum* o *casseliiflavus*, poseen determinantes *vanC* de codificación cromosómica y no han sido implicados en brotes hospitalarios. Otro aspecto importante es la comprobación de fenotipos de resistencia poco habituales, novedosos o imposibles que pueden distorsionar la información del informe acumulado o crear alertas innecesarias. En la **tabla 3** se detallan algunos de estos fenotipos que deben ser verificados por técnicas alternativas o remitidos a centros de referencia^{1,3}.

Respecto al manejo de la información de los aislados repetidos de un paciente, existen diversas formas de abordarlo. Se pueden

Tabla 3

Fenotipos de resistencia o pérdida de sensibilidad que deben ser confirmados

Microorganismo	Fenotipo
<i>A) Fenotipos novedosos (no descritos o detectados en casos esporádicos)</i>	
<i>S. pyogenes</i>	Penicilina ^R o cefalosporinas 3. ^a generación ^R
<i>S. pneumoniae</i>	Vancomicina ^R o linezolid ^R
<i>L. monocytogenes</i>	Ampicilina ^R o gentamicina ^R
<i>N. meningitidis</i>	Cefalosporinas 3. ^a generación ^{NS} o carbapenémicos ^{NS}
<i>H. influenzae</i>	
<i>B) Fenotipos poco frecuentes hasta la fecha</i>	
<i>Enterobacterias</i>	Productores de BLEE e inhibidores de BL ^R
	Carbapenémicos ^R (excepto <i>Proteus/Morganella</i> spp.)
<i>S. enterica typhi</i>	Cefalosporinas 3. ^a generación ^R
<i>A. baumannii</i>	Colistina/polimixina ^R
<i>P. aeruginosa</i>	Colistina/polimixina ^R
<i>S. maltophilia</i>	Cotrimoxazol ^R
<i>H. influenzae</i>	Amoxicilina/clavulánico ^R o fluorquinolonas ^R
<i>N. meningitidis</i>	Penicilina ^R de alto nivel
<i>N. gonorrhoeae</i>	Cefalosporinas 3. ^a generación ^{NS}
<i>S. pneumoniae</i>	Penicilina ^R de alto nivel
<i>S. aureus</i>	Vancomicina ^R de alto nivel, linezolid ^R , daptomicina ^R
SCN	Linezolid ^R
<i>Enterococcus</i>	Linezolid ^R
<i>E. faecalis</i>	Penicilina ^R de alto nivel

^{NS}: no sensible; ^R: resistente; SCN: *Staphylococcus coagulasa negativa*.

Modificada de Cornaglia et al.¹ y Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)³.

valorar: 1) todos los aislados; 2) solo el primer aislado por paciente (algoritmos basados en identificación de paciente), recomendado por el CLSI; 3) un aislado por episodio, que plantea la dificultad de la definición de episodio, o 4) un aislado de cada perfil de resistencias, prefijando de antemano los antibióticos que definen un fenotipo. Algunos sistemas de gestión del laboratorio incorporan algoritmos basados en el paciente o en el fenotipo, pero la mayoría no utilizan ningún criterio de selección y proporcionan la información de todos los aislados. En general, el análisis basado en todos los aislados obtiene porcentajes inferiores de sensibilidad que los otros enfoques y afecta sobre todo a patógenos hospitalarios, por lo que tiene menor repercusión en infecciones de adquisición comunitaria por *E. coli* o *Streptococcus pneumoniae*, que suelen causar infecciones que cursan en un periodo corto de tiempo y se remite una única muestra al laboratorio. Existen programas informáticos que facilitan el análisis y permiten la eliminación de duplicados, como WHONET, que es gratuito, o ABSOFT v5.0 2007 o LabPro Antibiogram Export Tool de Siemens, entre otros.

Microorganismos centinela

Otra de las herramientas fundamentales para el control de la IN es la monitorización periódica de microorganismos centinela, que pueden estar o no incluidos en el informe acumulado y que requieren un seguimiento más estrecho. Esta faceta del control de la IN implica un grado mayor de participación activa del microbiólogo ya que, por un lado, se requiere una fase previa de reflexión y análisis de los objetivos que se desean conseguir y, por otro, no existen recomendaciones o pautas tan aceptadas como en el informe acumulado anual. La selección de estos patógenos debe realizarse según la epidemiología local de cada institución (características de la población atendida, actividades asistenciales, número de camas, brotes previos ocurridos en el hospital, etc.) y debe actualizarse con la información disponible de ámbito nacional (aparición de brotes en otras áreas, emergencia de nuevos mecanismos de resistencia, importación de casos aislados de patógenos multirresistentes o nuevos patógenos, etc.). La Comisión de Infecciones y el equipo de control de IN son los que han de determinar qué patógenos deben vigilarse de forma periódica, así como la frecuencia de monitorización. No obstante, algunos de estos indicadores microbiológicos están determinados por disposiciones legales o normativas autonómicas y/o nacionales de obligado cumplimiento, como puede ser el caso del control de *Aspergillus* spp. en el aire hospitalario o *Legionella* spp. en agua sanitaria. Otro ejemplo es la situación de *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) en los países escandinavos, donde se maneja como una infección de declaración obligatoria y la monitorización del número de casos de infección es universal y pública. La forma y la frecuencia de comunicación de la detección de estos patógenos por parte del laboratorio van a depender del objetivo deseado (alerta, monitorización o control del impacto de una intervención), de los sistemas de integración y difusión de información que dispone el hospital, y de la propia dinámica del equipo de IN.

En teoría, cualquier microorganismo, ya se trate de bacterias, hongos y virus, así como parásitos, podría formar parte de este grupo de indicadores microbiológicos y la lista llegaría a ser interminable. Desde un punto de vista práctico, debe existir un compromiso entre los objetivos principales del control de IN (prevención y control de la de infección intrahospitalaria) por una parte y la capacidad del laboratorio por otra, y abarcar de forma conjunta la vigilancia de la emergencia y diseminación de la resistencia antibiótica. Por este motivo se pueden diferenciar 4 grupos de microorganismos centinela, que pueden conllevar estrategias de detección e información diferentes: 1) especies bacterianas con perfiles de resistencia relevantes; 2) microorganismos en los que su capacidad de transmisión intrahospitalaria

Tabla 4

Grupos de microorganismos centinela que con más frecuencia se utilizan para el control de la infección nosocomial

Microorganismo	Característica
A) Bacterias multirresistentes	
<i>Klebsiella/Enterobacter</i> spp.	Productor de BLEE/carbapenemasa
<i>P. aeruginosa</i>	Productor de carbapenemasa
<i>A. baumannii</i>	Carbapenémicos ^R
<i>S. aureus</i>	Meticilina ^R , glucopéptidos ^{LR} , linezolid ^R
SCN	Glucopéptidos ^R , linezolid ^R
<i>E. faecalis/E. faecium</i>	Glucopéptidos ^R
<i>S. pneumoniae</i>	Penicilina ^R alto nivel, C3G ^R
<i>M. tuberculosis</i>	Isoniacida ^R + rifampicina ^R
B) Patógenos de posible adquisición nosocomial de persona a persona	
<i>C. difficile</i>	Toxigénico
Norovirus, astrovirus	
Adenovirus	Serotipo 8 y 19
RSV, virus influenzae	
VIH, VHB, VHC	
C) Patógenos de adquisición de fuente ambiental	
<i>Aspergillus</i> spp.	
<i>L. pneumophila</i>	
Micobacterias	Especies de crecimiento rápido
D) Otros	
<i>B. cepacia</i>	
<i>S. maltophilia</i>	

^R: resistente; SCN: *Staphylococcus coagulasa negativa*.

entre individuos está bien documentada; 3) patógenos de típica adquisición ambiental, y 4) cualquier patógeno significativo por su acumulación temporal o espacial (ver resumen en la tabla 4)⁴. Las bacterias juegan un papel protagonista por su mayor frecuencia y dificultad de control respecto a otro tipo de agentes etiológicos.

La detección precoz de este tipo de microorganismos tiene un gran impacto tanto en el manejo clínico del paciente como en el diseño de intervenciones de control e identificación de reservorios y control de la eficacia de las medidas. El laboratorio de Microbiología debe invertir esfuerzos y recursos en incorporar o desarrollar nuevos métodos de diagnóstico rápido. Algunos de estos métodos están comercializados y los tiempos de obtención de resultados pueden oscilar entre 15 min y 6 h. Pueden estar basados en técnicas de detección de proteínas, enzimas o ácidos nucleicos específicos del patógeno. Algunas pueden realizarse directamente a partir de muestra y otras se llevan a cabo sobre un cultivo positivo (tabla 5). Estas técnicas rápidas no son en principio aplicables en el caso de patógenos que deben ser cuantificados, como es el caso de *Legionella* y *Aspergillus* spp.

Estudios de portadores

Uno de los puntos más controvertidos en el control de la IN es la detección activa de portadores de bacterias multirresistentes (MRO, organismos multirresistentes) en situaciones no epidémicas, pero no se discute su utilidad en el control de brotes. En la tabla 6 se resumen los argumentos esgrimidos a favor y en contra de la búsqueda activa de portadores de SARM, que puede extrapolarse a otros microorganismos centinela multirresistentes. La polémica no reside en realidad en aspectos económicos o científicos, sino que lo que subyace es el propio concepto de contención hospitalaria de agentes infecciosos. Los detractores de la vigilancia activa argumentan principalmente que las medidas universales de prevención de la infección deberían bastar para evitar la propagación, tanto de MRO como de patógenos en general, y que no es necesario conocer a priori a los portadores para prevenir la diseminación intrahospitalaria de MRO. Este principio básico de higiene (incluyendo medidas barrera y aislamiento, pero también programas de limpieza y desinfección) choca en la práctica médica

Tabla 5

Métodos de detección rápida de microorganismos centinela para el control de la infección nosocomial

Microorganismo	Método	Muestra
Detección de antígeno		
Virus respiratorios (VRS, influenza)	ELISA de membrana	Aspirado nasofaríngeo
Toxina de <i>C. difficile</i>	Inmunoensayo	Heces
Virus entéricos (Norovirus, Astrovirus)	ELISA de membrana	Heces
<i>L. pneumophila</i> ser. 1	Inmunoensayo	Orina
<i>pbp2'</i> de SARM	Aglutinación de latex	Cultivo de <i>S. aureus</i>
Detección de ácidos nucleicos		
<i>mecA</i> y SCC de SARM	Multiplex PCR en tiempo real	Frotis nasal
Productores de BLEE y carbapenemases	Microarray	Cultivo positivo
Múltiples determinantes de resistencia (<i>vanB</i> y <i>vanA</i> , <i>mecA</i>)	Multiplex PCR en tiempo real	Sangre
Toxina de <i>C. difficile</i>	PCR en tiempo real	Heces
Detección de enzimas		
Productores de BLEE y carbapenemases	Espectrometría de masas	Cultivo positivo

BLEE: betalactamasas de espectro extendido; SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina; SCC: casete cromosómica estafilocócica.

actual, en la que hay que contar con la reducida dotación de personal, el desarrollo tecnológico de la medicina, que se ve acompañado de medidas cada vez más invasivas, la tipología de los pacientes y la evolución genética de los MRO. Los que preconizan la vigilancia activa utilizan un enfoque más real, en el que se considera que la identificación de portadores ayuda a reforzar las medidas barrera y a detectar fallos en las buenas prácticas de higiene.

A la vista de la información científica de que se dispone, la decisión de implantar un programa de vigilancia activa de portadores va a depender de la situación epidemiológica de partida, de los recursos del laboratorio y del tipo y forma de las intervenciones de control de IN que se diseñen. Una vez que se considera incluir la detección activa de portadores de MRO, a continuación se debe responder a las siguientes cuestiones: 1) ¿qué microorganismos centinela se van a vigilar?; 2) ¿qué tipo de técnica se va a emplear?; 3) ¿qué grupos de pacientes van a constituir la diana de esta

Tabla 6

Argumentos en contra y a favor de la vigilancia activa de portadores de SARM

A favor	En contra
• El análisis de muestras clínicas solo detecta el 50-70% de los portadores de MRO y es necesario reducir el 90% de las transmisiones para tener impacto en la reducción de las infecciones	• Deberían utilizarse solo en caso de brotes, cuando las medidas universales de prevención de infecciones han fallado
• Evidencia científica de que la detección de portadores es beneficiosa en la reducción de la infección tanto en brotes como en situaciones no epidémicas	• La mayoría de los estudios tienen una calidad limitada y no incluyen grupos control sin detección activa
• Las reducciones de la incidencia sin incluir una vigilancia activa de SARM han ocurrido solo en instituciones con alta prevalencia	• Existe evidencia de reducción de la tasa de infecciones por SARM sin incluir la vigilancia activa de portadores
• Son menos costosas que los casos de infección por SARM que se evitan	• Son costosas porque hay que incluir el coste de la técnica, personal del laboratorio, transporte, administración

SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.
Modificado de Peterson et al.¹⁸.

vigilancia?, y 4) ¿qué muestra es la idónea para cada tipo de MRO? A continuación se detallan los aspectos más interesantes de cada cuestión.

Selección de organismos multirresistentes para la vigilancia activa

Existe una experiencia más dilatada en el seguimiento de portadores de SARM y *Acinetobacter baumannii* multirresistente y del beneficio de su vigilancia y control. En el caso de aislados de *Klebsiella* y otras enterobacterias productoras de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) o carbapenemasas, la experiencia disponible se reduce a pocas instituciones y a situaciones de brote, por lo que va a depender de los objetivos de control que establezca el equipo de control de IN y la historia epidemiológica reciente de la institución (existencia de brotes previos por un MRO).

Técnicas de detección de portadores de organismos multirresistentes

El objetivo final de la vigilancia activa es conseguir el aislamiento hospitalario de pacientes portadores durante el mayor periodo posible de su estancia. Los procesos decisivos radican en a) la sensibilidad de la técnica de detección; b) la rapidez con la que se comunican los resultados positivos al personal responsable de los aislamientos, y c) la selección del grupo de pacientes que van a estar vigilados. Actualmente existen 2 posibilidades: una basada en el cultivo usando medios diferenciales y selectivos, y otra basada en el empleo de métodos moleculares de detección a partir de la muestra directa de determinantes de resistencia (tabla 7).

La estrategia basada en cultivo comprende la utilización de medios con diferentes mezclas de antibióticos que seleccionan el MRO diana y alguna característica diferencial de las especies bacterianas que se buscan. La introducción, a partir de 1993, de medios comerciales que contienen sustratos para reacciones cromogénicas detectables tras 18-24 h de incubación ha supuesto un gran avance en microbiología, y cuando a estos medios se les ha añadido antibióticos permiten la selección e identificación de MRO. Estos medios presentan algunas ventajas: reducen de forma significativa el tiempo para la obtención de resultados respecto a los medios no cromogénicos, han sido validados con un número importante de muestras, incluyen la detección de un gran número de especies y determinantes de resistencia, su coste actual no es elevado (<1 euro/muestra) y no requieren una amplia experiencia técnica. El tiempo de detección de estos medios varía en función de si se incluyen o no un paso previo de enriquecimiento en caldo, lo que aumenta la sensibilidad para detectar portadores con recuentos bacterianos bajos pero retrasa la obtención de resultados. Los métodos moleculares han sido diseñados principalmente para SARM y enterobacterias resistentes a carbapenémicos, reducen el tiempo de informe de resultados a menos de 6 h y son más sensibles, pero algunos de ellos precisan conocimientos técnicos específicos y su coste actual es muy elevado (>20 euros/muestra). Esto supone un valor añadido sobre todo en los casos de brote, en los que las medidas de intervención son más agresivas.

En el caso de SARM, el diseño de las dianas de la primera generación de técnicas moleculares, dirigido al entorno cercano del gen *mecA* y no al propio gen, proporcionaba baja especificidad por los falsos positivos causados por aislados de *S. aureus* con la casete cromosómica SCC carentes de *mecA*⁵. La segunda generación de estos métodos incorpora un mayor número de dianas para aumentar la especificidad, y se está trabajando en la detección de las nuevas variantes homólogas de *mecA* que han aparecido en Europa⁶ y que pronto se incorporarán a los sistemas comerciales. El problema para la detección de gramnegativos multirresistentes, a diferencia de SARM o enterococo resistente a la vancomicina (ERV), radica en la

Tabla 7

Métodos disponibles para el control y vigilancia de portadores de organismos multirresistentes (MRO)

	Microorganismo	Medio de cultivo
Basados en cultivo	<i>S. aureus</i> meticilina ^R	<p><i>No cromogénicos</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Agar manitol-sal + 4-6 mg/l oxacilina Agar MH + 4% ClNa + 4-6 mg/l oxacilina <p><i>Cromogénicos</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ORSAB (Oxoid) MRSA select (Biorad) ChromID MRSA (Biomérieux) BBL CHROMagarTM MRSA II (BBL) HardyCHROM MRSA (HardyDiagnostics) CHROMagar MRSA (CHROM agar Microbiology) Brilliance MRSA (Oxoid) Chromatic MRSA (Liofilchem) <p><i>No cromogénicos</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Medio bilis-esculina + 6 mg/l vancomicina Medio con azida + 6 mg/l vancomicina <p><i>Cromogénicos</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Spectra VRE (Remel) (cromogénico) ChromID VRE (Biomérieux) Brilliance VRE Agar (Oxoid) CHROMagar VRE (CHROM agar Microbiology) No cromogénicos Agar MacConkey + 1-4 mg/l cefotaxima o ceftazidima <p><i>Cromogénicos</i></p> <ul style="list-style-type: none"> ChromID ESBL (Biomérieux) Brilliance ESBL AGAR (Oxoid) CHROMagar ESBL (CHROM agar Microbiology) HardyCHROM ESBL Agar (Hardy Diagnostics) <p><i>Cromogénico</i></p> <ul style="list-style-type: none"> chromID CARBA agar (Biomérieux) CHROMagar KPC (CHROM agar Microbiology) HardyCHROM™ Carbapenemase Agar (Hardy Diagnostics) <p><i>No cromogénico</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Agar MacConkey o cetrímidia + 4 mg/l imipenem <p><i>No cromogénico</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Agar MacConkey + 4 mg/l cefotaxima o ceftazidima MDR Acinetobacter Medium (Hardy Diagnostics) <p>Técnica</p> <p>GenoType MRSA Direct (Hain Lifescience)</p> <p>BD GeneOhm MRSA real-time PCR assay (BBL)</p> <p>Cepheid Xpert MRSA assay (Cepheid)</p> <p>Genotype Bac-IDent (Hain Lifescience)</p> <p>Check-MDR CT-103 (Check-Point)</p>
	<i>Enterococcus</i> glucopéptidos ^R	
	Enterobacterias productoras de BLEE	
	<i>P. aeruginosa</i> imipenem ^R	
	<i>A. baumannii</i> multirresistente	
Basados en técnicas moleculares	Microorganismo	
	<i>S. aureus</i> meticilina ^R	
	Enterobacterias productoras de BLEE y carbapenemasas	

BLEE: betalactamasas de espectro extendido; ^R: resistente.

gran variabilidad de genes de resistencia y de especies bacterianas, por lo que hay que seleccionar los determinantes más relacionados con diseminación intrahospitalaria, como las carbapenemasas, y utilizar sistemas de hibridación múltiple. En cualquier caso, si se decide utilizar técnicas moleculares a partir de muestra directa, es importante recordar que es necesario cultivar algunas de las muestras positivas y conservar el microorganismo aislado, con el objetivo de poder llevar a cabo comparaciones entre aislados, como veremos más adelante en la tipificación epidemiológica.

El tiempo necesario para la detección de portadores es uno de los factores más importantes para el inicio de las medidas de

aislamiento y barrera, previniendo la aparición de casos secundarios. Esto se evidenció en el control de SARM mediante modelos matemáticos en los que se evaluaban varias medidas e intervenciones, entre ellas la vigilancia activa de portadores⁷. Por este motivo, parece lógico pensar que las técnicas moleculares, a pesar de su coste, supondrían una ventaja adicional. Este principio teórico contrasta otra vez con la realidad de los hospitales. A la pronta obtención de resultados debe unirse una fácil y rápida comunicación con el equipo de IN y una rápida instauración de medidas. En un reciente metaanálisis en el que se evaluaban los resultados de diferentes métodos se observaba que los hospitales que utilizaban la detección por procedimientos moleculares no obtenían mejores resultados que los que lo hacían basados en cultivo, principalmente porque no se tenía en cuenta la parte post-analítica de la vigilancia activa⁸.

Elección de la población diana de la vigilancia activa

Este aspecto es el que más requiere de una adaptación local por parte del equipo de IN y que debe ser revisado conforme evolucione la epidemiología de los MRO, de los pacientes con riesgo de infección por MRO y de los recursos disponibles por el laboratorio. Existe cierto consenso en aplicar la vigilancia activa a pacientes que van a ser ingresados en unidades de cuidados intensivos, pacientes que han coincidido con casos positivos, casos previos de infección/colonización y pacientes sometidos a hemodiálisis en el caso de SARM⁹. Recientemente se ha añadido evidencia sobre el beneficio del cribado y descolonización preoperatoria de SARM en diferentes tipos de intervenciones quirúrgicas¹⁰. Existe también experiencia de mejores resultados con la vigilancia activa universal de SARM de todos los pacientes admitidos en el hospital¹¹, aunque los datos de coste-efectividad de esta estrategia no son concluyentes, han sido aplicados en hospitales de menos de 800 camas y han sido evaluados en países con alta prevalencia de SARM comunitario. Este panorama se revisará probablemente en el futuro debido al aumento de la incidencia de SARM comunitario sin relación con la atención sanitaria también en Europa. En cuanto a los bacilos gramnegativos y VRE, no existe un consenso ni una experiencia tan dilatada como con *S. aureus*, pero sí hay una serie de pacientes que deberían incluirse: 1) procedentes de residencias de ancianos u hospitales de larga estancia; 2) procedentes de países endémicos, como India o Pakistán (enterobacterias productoras de NDM); 3) procedentes de catástrofes naturales o zonas en guerra (*A. baumannii* productor de CTX-M-15); 4) procedentes de hospitales con alta prevalencia conocida de MRO (*K. pneumoniae* productor de KPC de unidades de cuidados intensivos de Grecia) (revisados en Woodford et al.¹²), y 5) con antecedente previo. A esto habría que añadir el control del personal sanitario en situaciones de brote o episodios en determinadas unidades, como unidades de cuidados intensivos, de hematología o de hemodiálisis.

Elección del tipo de muestras

El tipo de muestras va a depender del microorganismo diana de la vigilancia activa. Podemos diferenciar varias cuestiones: tipos de muestras en las que existe consenso de su utilidad, número de muestras por pacientes y situaciones especiales según el mecanismo de transmisión. Entre las muestras que debemos considerar se incluye el frotis nasal, el frotis inguinal y el exudado de úlceras y heridas para *S. aureus*; el frotis rectal para enterobacterias, *Enterococcus* y *A. baumannii*; el frotis faríngeo y muestras respiratorias para *A. baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*¹³. En cuanto al frotis axilar, está relacionado con el tipo de pacientes y de la unidad en la que se encuentren. Aumentar el número de muestras por paciente aumenta la sensibilidad, pero también de forma paralela el

coste y la complejidad del análisis¹⁴, aunque si se emplean métodos moleculares o de enriquecimiento se pueden agrupar las muestras.

Estudios de muestras ambientales

Un programa de control y prevención de IN debe contemplar la vigilancia y el control de una serie de microorganismos centinela de adquisición ambiental reconocida, como *Aspergillus* y *Legionella* spp., pero también, durante el transcurso de la investigación de reservorios en un brote o en el control de intervenciones, se plantea realizar análisis microbiológicos de muestras ambientales. Los aspectos relacionados con este tipo de muestras se verán con más detalle en otro capítulo (capítulo 19: «Papel del ambiente hospitalario y los equipamientos en la transmisión de las infecciones nosocomiales»).

Tipificación epidemiológica

Un paso imprescindible para el control de IN, pero que requiere de una infraestructura de personal y recursos que no está disponible en todos los laboratorios de Microbiología, es la comparación entre aislados, generalmente bacterianos y también de elementos móviles. La comparación entre aislados nos va a proporcionar información sobre diferentes aspectos, como: 1) si ha existido transmisión; 2) reservorios; 3) dimensión de un brote (qué pacientes están relacionados con una fuente o mecanismo de transmisión), y, por último, 4) eficacia en el tiempo de las medidas implantadas. La identificación a nivel de especie y el fenotipo de resistencia obtenido en el antibiograma pueden no ser útiles para establecer la relación entre los aislamientos, aunque suponen un primer nivel de comparación y, en ocasiones, el único disponible. En estos casos es necesario utilizar métodos moleculares de tipificación que poseen mayor capacidad de discriminación. En el caso de no estar incluido en la cartera de servicio del laboratorio, se debe remitir a un centro de referencia que preferiblemente proporcione una respuesta rápida, para que esta información pueda ser incorporada al diseño de las intervenciones durante el control de un brote.

Otro aspecto distinto es la vigilancia activa de clones de un determinado microorganismo centinela. Esto supone un concepto nuevo en el control de la IN que ha surgido a raíz de la mejora tecnológica en 3 áreas: 1) la implantación de técnicas de tipificación molecular en un número mayor de laboratorios; 2) el diseño de técnicas reproducibles y exportables a una base de datos en forma de algoritmos o códigos numéricos, y 3) el desarrollo de programas informáticos específicos y aplicaciones web. Representa una fase más avanzada que el simple control de brotes mediante tipificación y requiere de personal y recursos con mayor dedicación al control de la IN, tanto del laboratorio como del equipo de enfermería de IN. Tiene 2 ámbitos que se relacionan entre sí: uno dentro de la institución entre diferentes unidades asistenciales y a lo largo del tiempo, y otro que asocia lo que está ocurriendo en nuestro hospital con los clones circulantes en otros hospitales nacionales y de otros países. Para ello es necesario crear una base de datos local de perfiles genéticos que identifique clones entre pacientes o episodios no relacionados alertando sobre fenómenos de transmisión no sospechados por la investigación epidemiológica convencional, y que determine la variabilidad de clones en el área y la evolución histórica de los mismos (emergencia de nuevos clones, fenómenos de sustitución o solapamiento). Algunas de las técnicas que se están desarrollando hoy en día para SARM, basadas en secuenciación de un grupo de genes discriminativos (>50), permiten identificar perfiles genéticos de una forma más rápida, con impacto en el diseño de intervenciones^{14,15}. Además, hoy en día es necesario también poder identificar clones con alta capacidad de transmisión

internacional, utilizando sistemas de tipificación que se exportan a bases de datos internacionales con soporte web. Un ejemplo claro es la emergencia en diferentes lugares de aislados productores de KPC pertenecientes al clon ST258 de *K. pneumoniae*, lo que revela que la diseminación ha ocurrido por la transmisión internacional persona a persona. Conocer el comportamiento de estos clones con alto riesgo de diseminación va a jugar un papel importante en el futuro en el diseño de medidas preventivas y de control¹².

Los métodos de tipificación genotípica deben ser reproducibles, sensibles, aplicables a diferentes microorganismos, almacenables en bases de datos, económicos y con capacidad discriminativa para el objetivo previsto. No existe un método aplicable a todos los microorganismos. Actualmente, las técnicas de tipificación molecular se deben aplicar tanto a los microorganismos implicados en la infección como a los elementos móviles de transmisión horizontal (plásmidos, integrones, transposones) y genes específicos. Existen muchas clasificaciones de las técnicas de tipificación, la mayoría basadas en el tipo de técnica empleada. No obstante, es más útil conocer el grado de discriminación, que va a depender del porcentaje de zona variable e hipervariable que se analice con cada técnica. Los genomas bacterianos están compuestos de un cuerpo de genes común a todos los aislados de la misma especie (30-50% del genoma, dependiendo de la especie), una serie de zonas variables (20-40% del genoma) y otras zonas que son hipervariables (20-30%). En la tabla 8 se detallan las características de algunas de estas técnicas.

Tanto la electroforesis en campo pulsado (ECP) como las técnicas de amplificación de secuencias repetitivas exploran partes del genoma conservado, variable e hipervariable, por lo que el grado de discriminación que alcanzan es adecuado para estudiar la variabilidad que encontramos en los aislados de un hospital. La ECP es la técnica de referencia de tipificación debido a su elevado poder de discriminación y a su flexibilidad (permite estudiar la relación clonal de microorganismos de diferentes especies utilizando la misma tecnología y/o metodología). Entre las limitaciones más importantes de la ECP están el elevado coste del equipo, su laboriosidad y el tiempo necesario para analizar los pulsotipos. Como alternativa o herramienta complementaria a la ECP están las técnicas de tipificación basadas en la amplificación génica mediante PCR. Aunque existen diversas variantes de PCR, las que se están utilizando con más frecuencia son las basadas en el estudio de secuencias de ADN repetidas (REP-PCR). Estas técnicas son relativamente más económicas que la ECP, algunas son semiautomatizadas y están comercializadas, lo que reduce significativamente su laboriosidad y el tiempo de respuesta, y suelen generar patrones de bandas relativamente más fáciles de interpretar que la ECP. El poder de discriminación de las técnicas de PCR es inferior al de la ECP. Tanto la ECP como las técnicas de PCR tienen que optimizarse o estandarizarse en el laboratorio para garantizar una buena reproducibilidad. Las técnicas de REP-PCR comerciales y la ECP pueden normalizarse para generar perfiles almacenables y un registro histórico y se dispone de programas informáticos para llevarlo a cabo (Bionumerics, Fingerprinting, DiversiLab). Esto es posible tras un paso previo de optimización, como hemos comentado, pero también utilizando un procedimiento de normalización incluyendo idénticos criterios y aislados clave para normalizar en cada experimento. Existen diversos consensos internacionales para la estandarización y normalización de protocolos de ECP (Pulsenet para enterobacterias, Harmony para SARM) que permiten incluso, cumpliendo las condiciones prefijadas, la comparación entre diferentes laboratorios.

Los métodos de tipificación basados en la secuenciación del ADN, como el MLST, el MLVA, la tipificación de spa (para SARM) o, en el caso de plásmidos, el pMLST, son técnicas que analizan principalmente secuencias conservadas o variables. Por lo tanto, debido a su baja capacidad de discriminación, son más adecuados para el

estudio de clones a nivel supranacional y para el análisis de evolución genética. Los sistemas de secuenciación tienen la ventaja de asociar cada secuencia a un código numérico que es perfectamente exportable y almacenable. Además, se pueden generar algoritmos matemáticos que establecen las relaciones entre los clones (eBURST). Actualmente se dispone de bases de datos web de perfiles MLST y de MLVA de muchas especies bacterianas que permiten hacer el seguimiento de clones con alta capacidad de diseminación. Es interesante en el momento actual analizar al menos un aislado representante de cada brote hospitalario y/o comunitario para conocer su relación con clones internacionales, de dónde procede y cómo se comporta. Toda la información generada por esta nueva tecnología muestra que la mayoría de los MRO, que están originando brotes hospitalarios y la diseminación de nuevos determinantes de resistencia, pertenecen a un número reducido de clones y ha cambiado de forma significativa la perspectiva en el control de la IN¹².

A este arsenal metodológico se han incorporado las técnicas de secuenciación masiva debido al avance en el diseño de secuenciadores de ADN de alto rendimiento y las correspondientes herramientas de bioinformática. La secuenciación completa del genoma se está empezando a usar en el estudio de brotes hospitalarios revelando una complejidad mayor de la inicialmente sospechada con métodos moleculares más convencionales¹⁶. Esta metodología, que requiere una mayor infraestructura de personal y recursos, posee la capacidad de realizar análisis de transmisión local, de microevoluciones dentro de un mismo episodio y al mismo tiempo, de establecer las asociaciones necesarias con los clones internacionales. En un futuro cercano, cuando reduzcan su coste y se simplifique su utilización, probablemente sustituirán a los métodos actuales.

Estrategias de comunicación y alerta

Todos los pasos anteriormente comentados requieren de un buen sistema de comunicación con el equipo de IN y responsables de unidades asistenciales. Esta parte está menos desarrollada desde el punto de vista técnico, y en muchos hospitales de nuestro país se basa en la comunicación personal del microbiólogo con el equipo de IN. No obstante, existen hoy en día experiencias llevadas a cabo con software que identifica agrupamientos intra e interunidades en períodos reducidos de tiempo de idénticos perfiles y que incorporan sistemas de alerta que pueden ser conectados con los sistemas informáticos del hospital. En general son adaptaciones de los sistemas informáticos desarrollados para las alertas de salud pública. El más conocido es el WHONET-SaTScan, que analiza perfiles de sensibilidad y un aislado por paciente. Existen otros que incorporan la información generada por las técnicas de tipificación genética, pero requieren que se realice la tipificación de todos los aislados en tiempo real de forma prospectiva. Un ejemplo es el Ridom GMBH¹⁷, que alerta cuando más de 2 pacientes en menos de 2 semanas están colonizados o infectados por el mismo tipo de spa de SARM.

Al flujo y gestión de la información dentro de una institución debería sumarse la comunicación entre diferentes hospitales, sobre todo en un escenario en el que cada vez con más frecuencia se agrupan recursos en torno a unidades de referencia y que conlleva el traslado de pacientes y de personal. La fragmentación del sistema sanitario español y la desconexión informática entre hospitales de una misma comunidad dificultan la identificación de pacientes portadores de microorganismos centinela en el momento en que son ingresados en una nueva institución sanitaria. Además, tenemos que añadir también la importación de nuevos MRO de otros países, como ya ha ocurrido con aislados productores de carbapenemas entre países de la cuenca mediterránea.

Tabla 8

Características de algunos métodos de tipificación genética

Método	Facilidad técnica	Interpretación de resultados	Duración de la técnica (días)	Reproducibilidad entre laboratorios	Reproducibilidad intraensayo	Coste por prueba
ECP	Moderada	Fácil	3	Buena	Buena	Moderado
PCR-RFLP	Fácil	Fácil	1	Buena	Buena	Bajo
rep-PCR	Fácil	Fácil	1	Buena	Moderada	Bajo
AP-PCR	Fácil	Fácil	1	Moderada	Baja	Bajo
AFLP	Moderada	Moderada	2	Buena	Buena	Moderado
MLST	Moderada	Moderada	2	Muy buena	Buena	Elevado
MLVA	Moderada	Moderada	2	Muy buena	Muy buena	Elevado
WSG	Difícil	Difícil	7	Muy buena	Muy buena	Elevado

AFLP: polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados; AP-PCR: PCR de cebadores arbitrarios; ECP: electroforesis en campo pulsante; MLST: tipificación por secuenciación de múltiples loci; MLVA: análisis de las repeticiones en tandem de número variable en múltiples loci; Rep-PCR: PCR con cebadores específicos de secuencias repetitivas palindrómicas extragénicas; WSG: secuenciación masiva del genoma.

Conclusiones

En resumen, el papel del laboratorio de Microbiología en la vigilancia y control de la IN trasciende la propia actividad de apoyo al diagnóstico de enfermedades infecciosas. El microbiólogo interviene en todas las fases de desarrollo del programa de control y prevención, como cualquier otro miembro del equipo de control de IN, y es el responsable de gestionar el tiempo necesario para la obtención de información útil. El desarrollo y la difusión de los métodos moleculares han permitido obtener información cada vez más detallada sobre los mecanismos de transmisión y las características de los agentes de IN. La posibilidad de disponer de la relación genética de patógenos en menor tiempo, prácticamente en tiempo real a su detección, y a menor coste facilita la toma de decisiones dirigidas no solo al control de brotes, sino también a la búsqueda de reservorios y deficiencias en la aplicación de medidas barrera.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Cornaglia G, Hryniwicz W, Jarlier V, Kahlmeter G, Mittermayer H, Stratchounski L, et al. European recommendations for antimicrobial resistance surveillance. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10:349-83.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Analysis and presentation of cumulative antimicrobial susceptibility test data. 3rd ed. Approved guideline M39-A2. Wayne, PA: CLSI; 2009.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Twenty-second informational supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: CLSI; 2012.
4. Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, and the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee, 2007. Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. Disponible en: www.cdc.gov [consultado 20 Nov 2012].
5. Blanc DS, Basset P, Nahimana-Tessemo I, Jaton K, Greub G, Zanetti G. High proportion of wrongly identified methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriers by use of a rapid commercial PCR assay due to presence of staphylococcal cassette chromosome element lacking the *mecA* gene. *J Clin Microbiol.* 2011;49:722-4.
6. Stegger M, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, et al. Rapid detection, differentiation and typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* harbouring either *mecA* or the new *mecA* homologue *mecA*(LGA251). *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:395-400.
7. Cooper BS, Stone SP, Kibbler CC, Cookson BD, Roberts JA, Medley GF, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in hospitals and the community: stealth dynamics and control catastrophes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:10223-8.
8. Tacconelli E, de Angelis G, de Waure C, Cataldo MA, la Torre G, Cauda R. Rapid screening tests for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:546-54.
9. Wertheim HF, Melles DC, Vos MC, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis.* 2005;5:751-62.
10. Hardy K, Price C, Szczepura A, Gossain S, Davies R, Stallard N, et al. Reduction in the rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in surgical wards by rapid screening for colonization: a prospective, cross-over study. *Clin Microbiol Infect.* 2010;16:333-9.
11. Robicsek A, Beaumont JL, Paule SM, Hacek DM, Thomson Jr RB, Kaul KL, et al. Universal surveillance for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 3 affiliated hospitals. *Ann Intern Med.* 2008;148:409-18.
12. Woodford N, Turton JF, Livermore DM. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.* 2011;35:736-55.
13. Cano ME, Domínguez MA, Ezpeleta C, Padilla B, Ramírez de Arellano E, Martínez-Martínez L. Cultivos de vigilancia epidemiológica de bacterias resistentes a los antimicrobianos de interés nosocomial. *Enferm Infect Microbiol Clin.* 2008;26:220-9.
14. Tavolacci MP, Merle V, Dupuis M, Van Doren C, Josset V, Houdent G, et al. Choice of a strategy for screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on admission to rehabilitation units. *Presse Med.* 2004;18:1575-8.
15. O'Sullivan MVN, Zhou F, Sintchenko V, Gilbert GL. Prospective genotyping of hospital-acquired MRSA using a novel, highly discriminatory binary typing system. *J Clin Microbiol.* 2012;50:3513-9.
16. Snitkin ES, Zelazny AM, Thomas PJ, Stock F, Henderson DK, et al. Comparative Sequencing NISC Program. Tracking a hospital outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with whole-genome sequencing. *Sci Transl Med.* 2012;4, 148ra116.
17. Mellmann A, Friedrich AW, Rosenkötter N, Rothgänger J, Karch H, Reintjes R, et al. Automated DNA sequence-based early warning system for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreaks. *PLoS Med.* 2006;3:348-55.
18. Peterson LR, Diekema DJ, Doern GV. To screen or not to screen for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol.* 2010;48:683-9.