

## Sesión 11 Epidemiología de la resistencia antibiótica. Vigilancia de la resistencia antibiótica (II)

217

### STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN ESPAÑA: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EPIDEMIOLOGICAS (PROYECTO SARM 2003 GEIH/GEMARA/REIPI)

J. Rodríguez Baño, A. Millán, M.A. Domínguez, B. Almirante, E. Cercenado, B. Padilla, M. Pujol y grupo GEIH/GEMARA/REIPI. Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI), y Grupos de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH) y de Mecanismos de Acción y Resistencia a Antimicrobianos (GEMARA) de la SEIMC.

**Objetivos:** Describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) en hospitales españoles.

**Material y métodos:** Se invitó a participar a los hospitales españoles a través de la SEIMC. Se incluyeron los pacientes de los que se aisló SARM de alguna muestra clínica durante

junio de 2003. Las cepas fueron analizadas en un laboratorio centralizado (Hosp. de Bellvitge). Se recogieron datos demográficos, lugar de adquisición, enfermedades de base, procedimientos invasores, uso previo de antimicrobianos, tipo de infección, tratamiento y evolución.

**Resultados:** Disponemos de datos de 401 pacientes de 60 hospitales. Edad mediana: 71 años (todos adultos salvo uno), 61% hombres. Los pacientes estaban siendo atendidos en urgencias (3%), áreas médicas (38%), quirúrgicas (28%), UCI (12%) y ambulatoriamente (21%). La adquisición fue asociada a la atención sanitaria en el 89% (62% nosocomial, 10% procedentes de centros sociosanitarios, 16% ingreso en el año previo, 11% otras). El 90% presentaba una enfermedad de base no fatal. El 55% tenía un catéter vascular, 27% sonda urinaria, 28% cirugía, 10% ventilación mecánica. El 70% habían recibido antibióticos recientemente (31% penicilinas, 19% cefalosporinas, 31% quinolonas). Se consideró que tenían infección el 68% (piel y partes blandas 48%, respiratoria 19%, bacteriemia primaria 12%, urinaria 12%, osteoarticular 6%, otras 4%). El 12% tenía bacteriemia secundaria. Entre los pacientes con infección, el 14% tenía criterios de sepsis, el 3% de sepsis grave y el 5% de shock séptico. Entre los pacientes con indicación de tratamiento empírico, fue adecuado en el 28%. Los antimicrobianos más usados en tratamiento dirigido fueron vancomicina (40%), cotrimoxazol (20%) y teicoplanina (15%). Mortalidad cruda: 17%. Entre los pacientes con infección, la mortalidad cruda fue del 19% y la atribuible el 11%, y fue mayor en las infecciones respiratorias.

**Conclusiones:** La epidemiología de la infección por SARM en España está cambiando (el 21% no están hospitalizados, el 10% proceden de centros sociosanitarios y en el 11% no se encontró relación con la atención sanitaria, aunque este dato debe ser interpretado con precaución). El tratamiento empírico es muy frecuentemente inadecuado, posiblemente en relación con una muy baja sospecha diagnóstica.

218

### SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA Y CARACTERÍSTICAS GENOTÍPICAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA (SARM) EN ESPAÑA (PROYECTO SARM 2003 REIPI/GEIH/GEMARA)

M.A. Domínguez, C. Borraz, M. P. González, J. Rodríguez Baño, R. Martín y REIPI/GEIH/GEMARA (Red Española de Investigación en Patología Infecciosa -REIPI-, y Grupos de Estudio de Infección Hospitalaria -GEIH- y de Mecanismos de Acción y Resistencia a Antimicrobianos -GEMARA- de la SEIMC)

La prevalencia de cepas de SARM sigue siendo elevada en los hospitales españoles. Con objeto de evaluar los cambios epidemiológicos acontecidos en los últimos años, se diseñó un estudio multicéntrico prospectivo al que se invitó a participar a hospitales españoles a través de la SEIMC.

**Objetivos:** Conocer la sensibilidad a antibióticos no-beta-lactámicos entre las cepas SARM recibidas y realizar su caracterización genotípica. Detectar cepas con sensibilidad disminuida a glicopéptidos (GISA).

**Métodos:** Los hospitales participantes recogieron durante Junio-2003, las cepas de SARM aisladas en muestras clínicas de pacientes nuevos. De cada paciente se recogieron los datos clínico-epidemiológicos del episodio de infección o colonización. La recepción de las cepas se centralizó en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Universitario de Bellvitge. A su llegada las cepas fueron identificadas por técnicas bioquímicas, la sensibilidad antibiótica fue estudiada por disco difusión y se asignaron perfiles de resistencia antibiótica (PR). Se confirmó la resistencia a meticilina por PCR. Se realizó un cribaje de cepas GISA inoculando, con una suspensión 0,5 McFarland, placas de Mueller Hinton con 2 mg/L de vancomicina, confirmándose la CMI por E-test. El genotipo de los aislamientos se realizó mediante electroforesis en campo pulsátil (ECP).

**Resultados:** Participaron 72 hospitales y se recogieron 398 cepas, de ellas 382 correspondía a SARM. El 77% de los SARM fueron resistentes a eritromicina (Er), el 38% a clindamicina (Clin), el 26% a gentamicina (Gen), el 85% a tobramicina (Tob) y el 96% a ciprofloxacino (Cip). Se encontraron 28 PR distintos, el 65% de las cepas se agrupó en 4 PR: 20% PR2 (Er-Clin-Tob-Cip), 18% PR33 (Er-Tob-Cip), 15% PR20 (Er-Clin-Gen-Tob-Cip) y 12% PR4 (Tob-Cip). La resistencia a mupirocina fue del 22%. No se detectaron cepas GISA, aunque 5 cepas mostraron heterorresistencia a glicopéptidos. Se determinó el genotipo por ECP en 241 cepas, detectándose 2 clones mayoritarios a los que pertenecen el 80% de los aislamientos: clon P, 34% y clon Q, 46%. Ambos clones comparten los 4 PR más frecuentes.

**Conclusiones:** El clon Ibérico multirresistente y prevalente durante la década de los 90, ha sido sustituido en la actualidad por cepas SARM sensibles a más antibióticos. Estas cepas pertenecen en su mayoría a dos únicos clones. No se detectaron cepas GISA.

## 219

### LA SENSIBILIDAD A LA ERITROMICINA EN *S. AUREUS* RESISTENTE A LA OXACILINA (SARO) SE ASOCIA CON LESIONES CRÓNICAS ABIERTAS DEL PIEL Y MENOR EXPOSICIÓN A ENTORNOS INSTITUCIONALES

J.A. Martínez, J.P. Horcajada, S. Paz, A. de Luca, M. Piazuelo, F. Marco y J. Mensa

Hospital Clinic. Barcelona. España.

**Introducción:** Actualmente las cepas de SARO son mayoritariamente sensibles a la gentamicina, rifampicina y tetraciclinas. En nuestro centro, el 16% de los SARO son sensibles a la eritromicina y esta característica constituye un excelente marcador de susceptibilidad a otros antibióticos.

**Objetivo:** Comparar las características de los pacientes colonizados o infectados por SARO eritro-S con las de los individuos portadores de SARO resistentes a eritromicina y clindamicina.

**Métodos:** Estudio caso-control apareado 1:1, conducido entre agosto de 1999 y setiembre del 2002. Se consideraron casos los pacientes colonizados/infectados por SARO eritro-S. Cada caso se apareó con el primer paciente consecutivo del que se aisló una cepa de SARO eritro y clinda R. Se evaluaron las siguientes variables: edad, sexo, enfermedades subyacentes, índice de Charlson, tratamiento inmunosupresor, exposición durante los dos años anteriores al aislamiento del SARO a hospitales, centros de larga estancia, niños, personal sanitario y enfermos crónicos, administración de antibióticos durante el último mes y presencia de lesiones cutáneas crónicas o heridas quirúrgicas abiertas.

**Resultados:** Se incluyeron 59 casos y sus correspondientes controles. Una proporción inferior de casos padecía de insuficiencia renal crónica (8% vs 27%,  $p = .01$ ), había recibido tratamiento antibiótico en el mes previo (20% vs. 46%,  $p = .003$ ) y tenía o había tenido contacto con el hospital o un centro de larga estancia en los dos años previos (80% vs. 97%,  $p = .004$ ). Por el contrario, una mayor proporción de casos presentaba lesiones cutáneas abiertas no quirúrgicas (32% vs 15%,  $p = .03$ ). El análisis multivariado identificó el no recibir antibiótico previo (OR = 4,69, IC95% = 1,5-14,6), la ausencia de insuficiencia renal (OR = 3,7, IC95% = 1,03-13,5) y la presencia de lesiones cutáneas (OR = 3,9, IC95% = 1,2-14,6) como los factores individualmente asociados con ser portador de SARO eritro-S.

**Conclusiones:** En los SARO, la sensibilidad a la eritromicina puede constituir un marcador de una mayor capacidad de asentamiento sobre lesiones crónicas abiertas de la piel. Aunque salvo por la menor prevalencia de insuficiencia renal y exposición reciente a antibióticos los individuos portadores de cepas eritro-S y clinda-R son similares, hasta en un 20% de los casos la adquisición de SARO eritro-S no puede vincularse al hospital o centros de larga estancia.

## 220

### ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE LOS ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO VIRIDANS (EGV) AISLADOS DE PACIENTES CON ENDOCARDITIS INFECCIOSA EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL DURANTE EL PERÍODO 1990- 2003

Y. Armero, C. García de la Mária, M. Jiménez ALzate, M. Almela, X. Claramonte, M.J. Jiménez Expósito, N. Benito, N. Pérez, C.A. Mestres, A. Moreno, M.T. Jiménez de Anta, F. Marco, J.M. Gatell y J.M. Miró

**Introducción:** Los EGV suponen uno de los agentes etiológicos más frecuentes de la endocarditis infecciosa. En los últimos años se ha observado en estos microorganismos un aumento de la resistencia a la penicilina y otros antibióticos.

**Objetivos:** Conocer la sensibilidad de las cepas de EGV aisladas en pacientes con endocarditis desde el año 1990 al 2003 y la prevalencia de la resistencia a diversos antibióticos.

**Métodos:** Se han estudiado un total de 102 cepas consecutivas de EGV. La identificación se llevó a cabo por el sistema API rapid ID 32 Strep®, la sensibilidad se determinó mediante macrodilución en caldo y E-test en Mueller-Hinton sangre. Los antibióticos estudiados fueron: penicilina (PEN), ampicilina (AMP), ceftriaxona (CRO), imipenem (IMI), vancomicina (VAN), teicoplanina (TEI), linezolid (LZ), synergid (SYN), clindamicina (CL), eritromicina (ERI), ciprofloxacino (CIP), levofloxacino (LEV), gatifloxacino (GAT) y moxifloxacino (MOX). En las cepas con resistencia a PEN se efectuaron estudios de sinergia con la combinación de PEN o LZ más gentamicina (GEN) mediante el método de checkerboard y curvas de letalidad (a concentraciones de CMI/4, CMI/2 y CMI para penicilina y de 2xCMI, 4xCMI y 8xCMI para linezolid).

**Resultados:** Las especies aisladas fueron: *S. bovis* (26%), *S. oralis* (25%), *S. mitis* (21%), *S. sanguis* (7%), grupo anginosus (8%) y el 13% restante compuesto por *S. mutans*, *S. salivarius*, *S. gordonii* y *S. parasanguis*. La prevalencia de la resistencia a PEN (CMI  $\geq 0,25$  mcg/mL) fue de un 20%. Tres de ellas (2,7%) presentaron alta resistencia (CMI  $\geq 4$  mcg/mL). Las CMI<sub>50</sub>/CMI<sub>90</sub> (mcg/mL): PEN (0,06/0,5), AMP (0,12/1), CRO (0,06/0,5), IMI (0,015/0,12), VAN (0,5/1), TEI (0,06/0,12), LZ (1/1), SYN (0,5/2), CL (0,06/256), ERI (0,12/256), CIP (1/2), LEV (0,5/1), GAT (0,25/0,25) y MOX (0,12/0,25). Todas las cepas fueron sensibles a IMI, VAN, TEI y LZ. Un aislado (*S. bovis*) mostró alta resistencia a GEN y 5 a estreptomycin. El 85% de las cepas presentaron tolerancia a los glicopéptidos. La combinación de PEN + GEN fue indiferente y se observó una actividad sinérgica con LZ + GEN.

**Conclusiones:** Si la tasa de resistencia a PEN aumenta con el tiempo se tendrán que buscar nuevas alternativas a las pautas actuales para el tratamiento de la endocarditis causada por estos microorganismos.

## 221

### SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES* AISLADOS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DE ATENCIÓN PRIMARIA

A. Fleites, E. Valdés, P. Venero, M. Castillo, M.J. Santos  
Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas.  
Hospital Central de Asturias. Hospital General, Oviedo.

**Introducción:** *Streptococcus pyogenes* es el agente causal más prevalente en los episodios de faringitis bacteriana. Se mantiene sensible a penicilina y el estudio de la sensibilidad está recomendado para terapias alternativas y la monitorización de resistencias emergentes. Revisamos la sensibilidad de esta agente etiológico en aislados faríngeos de la población pediátrica, en el ámbito de atención primaria.

**Material y métodos:** Se determinaron 341 aislados (un aislado por paciente) durante los años 2002 y 2003. Se determinó la sensibilidad antibiótica por el método de microdilución (CMI µg/ml) y criterio de interpretación del NCCLS M100-S13 (M7). Se determinó la resistencia fenotípica a macrólidos con eritromicina, azitromicina, josamicina y clindamicina.

**Resultados:** Todos los aislados fueron sensibles a penicilina CMI 50:  $\leq 0,03$ , CMI 90: 0,06, cefotaxima CMI 50 y 90:  $\leq 0,06$ , cefuroxima CMI 50 y 90:  $\leq 0,5$ . No se detectó resistencia a fluoroquinolonas: ciprofloxacina CMI 50:  $\leq 0,5$ , CMI 90 = 1 y levofloxacina CMI 50 y 90:  $\leq 0,5$ . No se detectó resistencia a quinupristin-dalfopristin, todos los aislados mostraron CMI  $\leq 1$ . Se detectó resistencia a tetraciclina en un 7% de los aislados (CMI  $\geq 4$ ). La resistencia a macrólidos alcanzó a un 22,2% de los aislados. El patrón fenotípico más prevalente fue el M (76,3%), mostrando baja resistencia a eritromicina (CMI rango 1-16) y azitromicina y sensibilidad a clindamicina CMI  $\leq 0,25$  y josamicina CMI  $\leq 0,5$ . El patrón fenotípico MLS (23,6%, 2 inducibles) exhibió resistencia elevada a eritromicina (CMI  $\geq 32$ ) y azitromicina, josamicina (CMI  $\geq 4$ ) y clindamicina.

**Conclusiones:** No se evidenciaron resistencias emergentes en este patógeno. Los macrólidos no deben emplearse como tratamiento empírico, en episodios de faringoamigdalitis en la población infantil ambulatoria. Se aconseja realizar estudio de sensibilidad sistemática a macrólidos y su patrón fenotípico para una valoración correcta del antibiograma.

## 222

### DISEMINACIÓN DE UN CLON DE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* RESISTENTE A LA AMPICILINA

M. González Martín\*, O. Afonso Rodríguez\*\* y A.M. Martín Sánchez\* \*\*

\*Departamento de Ciencias Clínicas. Facultad de Ciencias de la Salud, ULPGC. \*\*Servicio Microbiología, Hospital Universitario Insular de Gran Canaria.

**Objetivo:** Detectar la permanencia y diseminación de clones de *E. faecium* resistente a la ampicilina.

**Métodos:** Se recogieron 13 cepas de *E. faecium* del 2002 y 7 del 2003 del Servicio de Microbiología del Hospital Universitario Insular. La identificación bioquímica y sensibilidad antibiótica de las cepas se realizaron por el sistema Wider® (Soria Melguizo). Los antimicrobianos estudiados han sido: ampicilina (Am), penicilina (P), amoxicilina/clavulánico (A/C), vancomicina, teicoplanina, ciprofloxacina (Cip), eritromicina (Eri), clindamicina (Cd), Trimetropin-sulfametoxazol (TMT-SXT), cloranfenicol, fosfomicina, rifampicina (Rif), levofloxacina (Lev), linezolid, quinupristina/dalfopristina (Q/D) y alto nivel de resistencia a gentamicina y estreptomina. La caracterización del ADN cromosómico se determinó con corte con enzima de restricción SmaI y electroforesis en campo pulsante (PFGE). Los pulsotipos se compararon visualmente entre sí y con clones de *E. faecium* detectados en aislados del 2001.

**Resultados:** En dos aislados de heridas correspondiente a un mismo paciente del 2002 y en cinco aislados, tres de sangre y dos de orinas, del 2003 correspondientes a pacientes diferentes se encontró el mismo pulsotipo. Estos aislados eran resistentes a P, Am, Cip, Eri, Cd, TM-SXT, Rif, Lev, Q/D y presentaban resistencia de alto nivel a la estreptomina. El resto mostraba patrones de PFGE y de resistencia a los antimicrobianos estudiados diferentes. Cuando comparamos los pulsotipos y patrones de resistencia de estas estirpes con las analizadas del 2001, observamos que coincidían con uno de los clones detectados previamente. Del análisis de los datos hospitalarios observamos que procedían de diferentes plantas y servicios.

**Conclusiones:** Se ha detectado un clon de *E. faecium* resistente a la ampicilina que se localizó en el año 2001, se ha mantenido en el 2002 y en el 2003, diseminándose entre varios pacientes en este último año.

## 223

### CMI DE ENTEROCOCOS "RESISTENTES A VANCOMICINA" EN EL MEDIO DE CRIBADO BHI-VANCOMICINA

B. Ramos, P. Díez-Ferrero, P. García-Hierro, M. Flores y M. Sanchez Concheiro

**Introducción:** La detección temprana de los pacientes colonizados o infectados por enterococo resistente a vancomicina es uno de los factores esenciales para prevenir su diseminación nosocomial. Sin embargo, la detección de resistencia a glucopéptidos en *Enterococcus sp* no siempre es fácil en la rutina del laboratorio. El método de difusión en agar (disco placa) no detecta resistencias intermedias y de bajo nivel. Los métodos de difusión en agar o caldo son laboriosos y los paneles comerciales resultan caros para este fin. Según el NCCLS, la utilización de una placa de cribado BHI- vancomicina (BHI-VA) (4 o 6 µg/ml) mejora la sensibilidad en la detección de EVR.

**Objetivo:** Estudio de CMI de *Enterococcus sp* detectados "resistentes a vancomicina" con el método de screening BHI-VA 6 µg/ml.

**Material y métodos:** Se estudiaron un total de 390 *Enterococcus sp* de nuestro cepario aislados en muestras de vigilancia epidemiológica (recto, orofaringe, otras) de pacientes ingresados en el Hospital Universitario de Getafe. La sensibilidad a vancomicina de todos los enterococos aislados fue evaluada mediante el método de screening BHI-VA 6 µg/ml (tal y como se describe en los protocolos del NCCLS), incluyendo controles positivos y negativos con cepas de resistencia conocida del CDC y la cepa ATCC 29212. A las cepas que presentaron crecimiento en placa BHI-VA, tras repetir la prueba, se les realizó determinación de CMI mediante sistema comercial WIDER (Gram positivos 094) y aquellos con CMI  $\leq 4$ , además, método de difusión E- test. Se incubaron 48 horas, con lecturas a las 24 y 48 horas.

**Resultados:** Se observó crecimiento en placa BHI-VA en 32 *Enterococcus sp* (8,2%). Las CMI obtenidas fueron: 10 aislados CMI vanco = 2; 15 con CMI = 4; 5 con CMI = 8 y 1 con CMI = 16. La distribución por especies correspondió a: 11 *E. faecalis*, 3 *E. faecium*, 7 *E. casseliflavus* y 11 *E. gallinarum*. La mayor parte de *E. faecalis* presentaron CMI = 2 excepto 1 (CMI = 16); 2 cepas de *E. faecium* y 3 de *E. gallinarum* tuvieron CMI = 8; el resto de las cepas presentaron CMI = 4.

**Conclusiones:** El método BHI-VA detecta resistencia de intermedio y bajo nivel a vancomicina en *Enterococcus sp*. Pero conviene confirmar la CMI en las cepas "resistentes" ya que la técnica es muy sensible y detecta cepas con CMI = 2 y 4 µg/ml, no consideradas resistentes. Así mismo, es deseable la identificación de los enterococos "resistentes" a nivel de especie.

## 224

### COLONIZACIÓN RECTO-VAGINAL POR *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* Y SU SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA EN GESTANTES DE LA REGIÓN SANITARIA DE TORTOSA.

M.M.O. Pérez Moreno, M. Carulla Pont, G. Sanz Tamargo, J.I. Buj González, M.I. Llovet Lombarte, M.P. Cid Ventura, A.M. Jardí Baiges y J.J. Zaragoza López

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital de Tortosa Verge de la Cinta. Tortosa (Tarragona).

**Introducción:** La profilaxis antibiótica intraparto en gestantes que presentan colonización vaginal o rectal por *Streptococcus agalactiae* o Estreptococo grupo B (EGB) ha demostrado ser una estrategia eficaz para evitar la infección neonatal precoz por SGB. El Objetivo de nuestro trabajo es conocer la tasa de colonización por SGB entre gestantes de

nuestra región sanitaria y estudiar la sensibilidad antibiótica de estas cepas, en particular a clindamicina (CLI) y eritromicina (ERI), con el fin de establecer la conveniencia de efectuar sistemáticamente pruebas de sensibilidad *in vitro* en los aislados procedentes de gestantes alérgicas a  $\beta$ -lactámicos, tal como aconsejan las nuevas recomendaciones.

**Material y métodos:** Entre octubre de 2002 y diciembre de 2003 se remitieron a nuestro laboratorio, para investigar la presencia de SGB, 1.218 parejas de frotis vaginales y rectales procedentes de 1218 mujeres entre la semana 35 y 37 de gestación. Todas las muestras se inocularon en caldo triptosa-soja suplementado con nalidixico y colistina y tras una incubación de 18 horas a 35°C, se sembraron en agar Granada que fue incubado 24-48 horas a 35°C en atmósfera anaerobia. Se estudió la sensibilidad antibiótica de todas las colonias que producían pigmento anaranjado en agar Granada (SGB) por microdilución en caldo (paneles 1W suplementados con sangre lisada de caballo. Soria Melguizo. España) o mediante tiras E-test (AB Biodisk. Suecia) en caso de resultados dudosos. En aquellas cepas resistentes a ERI y sensibles a CLI se investigó el fenotipo de resistencia mediante la prueba de antagonismo con discos.

**Resultados:** a) Se aisló SGB en 180 de los 1.218 frotis vaginales y/o rectales procesados, lo que supone una tasa de colonización del 14,4% (IC 95%: 9,3%-19,5%). b) Todas las cepas ensayadas fueron sensibles a ciprofloxacino, penicilina y ampicilina, aunque 13 cepas (7,2%) presentaron una CMI > 0,12 mg/mL para penicilina o > 0,25 mg/mL para ampicilina por E-test. La resistencia a ERI y CLI fue del 12,8% (23/180) y 10,5% (19/23) respectivamente; todas las cepas resistentes a CLI lo fueron también a ERI, mientras que 3 de las 4 cepas resistentes a ERI y sensibles a CLI mostraron fenotipo MLS<sub>B</sub> inducible y 1 fenotipo M, lo que supondría un porcentaje de resistencia real a CLI del 12,2%. El 84,4% (152/180) fueron resistentes a tetraciclina.

**Conclusiones:** a) La tasa de colonización recto-vaginal en gestantes de nuestra región sanitaria es muy similar a la descrita en nuestro entorno. b) El porcentaje de resistencia a CLI y ERI justifica seguir las recomendaciones que aconsejan testar la sensibilidad a estos antimicrobianos en las cepas de SGB de gestantes alérgicas a  $\beta$ -lactámicos. c) Es necesario comprobar por un método alternativo la CMI de aquellos aislados de SGB que presentan sensibilidad disminuida a ampicilina o penicilina por microdilución en caldo.

## 225

### EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO DE ADQUISICIÓN NOSOCOMIAL

L. Romero, J. Rodríguez Baño, M.D. Navarro, M.A. Muniain, E. J. Perea y A. Pascual

Departamento de Microbiología y Sección de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

**Introducción:** A diferencia de *Klebsiella pneumoniae* productor de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE), se han descrito muy escasos brotes nosocomiales por *E. coli* productor de BLEE (ECBLEE), dado que la mayoría de los casos nosocomiales parecen no estar epidemiológicamente relacionados.

**Objetivos:** Analizar la sensibilidad a antimicrobianos, la epidemiología molecular y los tipos de enzimas de ECBLEE. **Material y métodos:** Se estudiaron los aislamientos de ECBLEE entre enero 2001 y mayo 2002 en el Hospital Virgen Macarena (HVM) (agudos, 1000 camas) y en el Hospital de San Lázaro (HSL) (media y larga estancia, 150 camas). Solo se incluyó un aislado por paciente, salvo cuando un ECBLEE se aislara en dos episodios distintos de un mismo paciente y no estuvieran clonalmente relacionados. La identificación y sensibilidad a antimicrobianos de las cepas se determinó me-

dante VITEK2 (bioMérieux, Francia). La producción de BLEE se estudió mediante la técnica del doble disco y se confirmó mediante microdilución (criterios del NCCLS). La relación clonal entre las cepas se estudió con REP-PCR. La caracterización preliminar de las BLEE se realizó mediante determinación del punto isoelectrico y PCR con cebadores específicos.

**Resultados:** Se incluyeron 48 aislamientos. Se encontraron 2 grupos clonales predominantes (A y B), con 11 aislamientos cada uno. Otros 2 clones (C y D) tuvieron 2 aislamientos cada uno. El resto de los 22 aislamientos no estuvieron clonalmente relacionados. 7 de los 11 casos con un aislamiento perteneciente al grupo clonal A estaban en el HVM, mientras que 8/11 de aquellos con un aislamiento perteneciente al grupo clonal B estaban en el HSL. No hubo diferencias entre pacientes con aislados pertenecientes a grupos clonales predominantes y el resto respecto a estancia previa, enfermedades de base, procedimientos invasivos, uso previo de antimicrobianos o tipos de infecciones. En cuanto al análisis preliminar de tipos de BLEE, el 42% de los aislamientos eran productores de enzimas tipo TEM, el 60% tipo SHV y el 58% tipo CTX-M. Los grupos clonales predominantes (A y B) fueron más frecuentemente productores que el resto de clones de enzimas tipo TEM (82% vs 8%, p < 0,001) y SHV (86% vs 39%, p = 0,001), mientras que fueron menos frecuentemente productores de enzimas tipo CTX-M (27% vs 85%, p < 0,001). El perfil de sensibilidad predominante del grupo clonal A fue: sensible (S) a gentamicina (GEN) y cotrimoxazol (T/S), y resistente (R) a amoxicilina/clavulánico (A/C), tobramicina (TOB) y ciprofloxacino (CIP); el del grupo clonal B: S a A/C y R a GEN, TOB y CIP.

**Conclusiones:** De manera inesperada, hemos encontrado que el 46% de los ECBLEE nosocomiales forman parte de dos clones predominantes con distintos patrones de sensibilidad, causando sendos brotes epidémicos. Estos clones producen más frecuentemente enzimas tipo TEM y SHV, mientras que el resto son más frecuentemente productores de CTX-M.

## 226

### *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTOR DE $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO DE ADQUISICIÓN NOSOCOMIAL: CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS Y CLÍNICAS

J. Rodríguez Baño, M.D. Navarro, L. Romero, M.A. Muniain, E.J. Perea, R. Pérez Cano y A. Pascual

Sección de Enfermedades Infecciosas y Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

**Introducción:** El conocimiento de la epidemiología de la adquisición nosocomial de *E. coli* productor de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (ECBLEE) es fundamental para diseñar medidas de control. Sin embargo, existen pocos estudios específicos al respecto.

**Objetivos:** Analizar las características clínicas y epidemiológicas de la infección/colonización por ECBLEE nosocomial.

**Material y métodos:** Estudio de casos y controles. Casos: pacientes con aislamiento de ECBLEE de adquisición nosocomial (criterios CDC) entre enero 2001 y mayo 2002 en el Hospital Virgen Macarena (HVM) (agudos, 1000 camas) y en el Hospital de San Lázaro (HSL) (media y larga estancia, 150 camas). Se eligieron dos tipos de controles: (A) elegidos aleatoriamente entre los pacientes ingresados en la misma unidad que el caso y con estancia previa similar, y (B) elegidos aleatoriamente entre aquellos de la misma unidad con aislamiento de *E. coli* no productor de BLEE. Se realizaron análisis multivariantes mediante regresión logística.

**Resultados:** Se incluyeron 48 casos, 19 del HSL y 29 del HVM (incidencias: 0,40 y 0,05 casos/100 ingresos, respectivamente). En el HVM, 14 (48%) estaban en servicios médicos, 9 (31%) en quirúrgicos, y 6 (21%) en UCI. Todos los del

HSL estaban en servicios médicos. Presentaba infección el 77% (40,52% urinaria, 25% de úlcera, 13,5% quirúrgica, 11% respiratoria; 7 tuvieron bacteriemia). En el HSL solo hubo infecciones urinarias y de úlcera. Fueron factores de riesgo independientes (controlando por tiempo de exposición al riesgo y gravedad de la enfermedad de base) respecto de los controles (A): sonda urinaria (OR = 3,5; IC 95% 1,1-10,5), uso previo de cefalosporinas de espectro extendido (OR = 6,1; IC 95% 1,7-21,1) y fluorquinolonas (OR = 15,0 IC 95% 3,4-65,2), y respecto de los controles (B): sonda urinaria (OR = 4,2; IC 95% 1,4-11,8), uso previo de cefalosporinas de espectro extendido (OR = 2,9; IC 95% 1,02-8,5) y fluorquinolonas (OR = 9,5; IC 95% 2,7-33,7).

**Conclusiones:** La incidencia de ECBLEE fue mayor en el centro de media y larga estancia que en el de agudos. La relevancia clínica fue distinta en ambos centros. Los factores de riesgo para la adquisición nosocomial de estos organismos son el uso previo de cefalosporinas de espectro extendido y fluorquinolonas, y el sondaje urinario. Estos resultados deben tenerse en cuenta para el diseño de medidas de control.

## 227

### RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* DE MUESTRAS FECALES DE NIÑOS SANOS DURANTE LOS PRIMEROS SEIS MESES DE VIDA

M. Sanz\*, Y. Ruiz\*\*, A. Portillo\*, Y. Sáenz\*, R. Garrido\*\*, L. Briñas\*, M. Zarazaga\* y C. Torres\*

\*Área Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de La Rioja, Logroño; \*\*Servicio de Pediatría, Hospital San Millán, Logroño.

**Objetivo:** Estudiar la resistencia a antibióticos y los mecanismos implicados en cepas de *E. coli* aisladas de muestras fecales de niños sanos durante los primeros 6 meses de vida.

**Material y métodos:** Se tomaron muestras fecales de 33 niños sanos en 4 edades diferentes (1 día/1 mes/3 meses/6 meses) y se sembraron en agar Levine para el aislamiento de *E. coli*. Se seleccionaron 1-2 colonias por niño y edad. En algunos de los niños no se obtuvieron muestras en las cuatro edades. Se estudió la sensibilidad a 17 antibióticos por difusión y dilución en agar y se analizaron los mecanismos de resistencia por PCR, PCR-RFLP y secuenciación.

**Resultados:** Se detectó colonización por *E. coli* en el 3, 37, 60 y 81% de las muestras correspondientes a 1 día, 1 mes, 3 meses y 6 meses, respectivamente. Se aislaron 79 cepas de *E. coli*. Los porcentajes de resistencia a antibióticos fueron: ampicilina (AMP, 53%), tetraciclina (TET, 42%), sulfametoxazol (SUL, 47%), estreptomina (STR, 40%), trimetoprim-sulfametoxazol (29%), cloranfenicol (21%), amoxicilina-ác. clavulánico (AMC, 11%), ác. nalidíxico (NAL, 11%), kanamicina (5%), ciprofloxacina (CIP, 1%), cefoxitina, fosfomicina (1%), gentamicina, amikacina, tobramicina, cefotaxima y ceftazidima (0%). En las 9 cepas de *E. coli* AMC<sup>R</sup>, se detectaron los genes de β-lactamasas *bla*<sub>TEM-1B</sub> (n = 5) y *bla*<sub>OXA-30</sub> (n = 4). También se estudiaron los genes *bla* en las 9 cepas AMP<sup>R</sup>-AMC<sup>S</sup> y se detectó un gen tipo *bla*<sub>TEM</sub> en 6 cepas y *bla*<sub>SHV-1</sub> en 1 cepa. Se determinó la posición de las mutaciones en GyrA por PCR-RFLP en las 9 cepas NAL<sup>R</sup>; en 8 cepas CIP<sup>S</sup> se detectó una mutación en el codón 83 y en una cepa CIP<sup>R</sup> una doble mutación en los codones 83+87. Los genes de resistencia detectados en las 33 cepas TET<sup>R</sup> fueron: *tet*(A) (n = 18), *tet*(B) (n = 13) y ningún gen en n = 2. En las 37 cepas SUL<sup>R</sup> se detectaron los genes *sul1* (n = 6), *sul2* (n = 17) y *sul1+sul2* (n = 9). En 20 de las 32 cepas STR<sup>R</sup> se detectó el gen *aadA*.

**Conclusión:** Se observa un incremento en la tasa de colonización por *E. coli* con la edad de los niños. Las cepas aisladas presentan altas tasas de resistencia y una gran variedad de mecanismos, destacando la presencia del gen *bla*<sub>OXA-30</sub> en las cepas de *E. coli* AMC<sup>R</sup> de los recién nacidos.

## 228

### COMPARACIÓN DE LOS NIVELES DE RESISTENCIA A DIVERSOS AGENTES ANTIMICROBIANOS EN CEPAS DIARREOGÉNICAS DE *ESCHERICHIA COLI* CAUSANTES DE DIARREA DEL VIAJERO ENTRE DOS PERIODOS, 1994-1997 Y 2001-2003

M.E. Mendez Arancibia, J. Ruiz, R. Cabrera, J. Gascón y J. Vila

**Objetivos:** Comparar los niveles de resistencia a diversos agentes antimicrobianos en *Escherichia coli* causante de diarrea de viajeros, entre dos periodos, 1994-1997 y 2001-2003.

**Material y métodos:** Mediante PCR se detectaron las cepas enteroagregativas (EAEC) y enterotoxigénicas (ECET) entre aquellas aisladas como causa de diarrea del viajero en los periodos anteriormente nombrados. Asimismo, se estudió mediante el método de Kirby-Bauer la sensibilidad a los siguientes agentes antimicrobianos: ampicilina (AMP), amoxicilina más ácido clavulánico (AMC), tetraciclina (TET), cloranfenicol (CL), cotrimoxazol (TS), ácido nalidíxico (NAL) y ciprofloxacina (CIP).

**Resultados:** Ciento treinta y dos (50 EAEC y 82 ECET) y 122 (55 EAEC y 67 ECET) *E. coli* diarreogénicas fueron recuperadas durante los periodos 1994-1997 y 2001-2003, respectivamente. Los niveles de resistencia a todos los antimicrobianos estudiados en el periodo 2001-2003 muestran un incremento con respecto a los obtenidos en el periodo 1994-1997 entre las cepas EAEC: AMP de 52 a 65%, AMC de 0 a 10%, TET de 64 a 87%, TS de 48 a 69%, NAL de 6 a 27%, CIP de 2 a 16% (P < 0,0001) los niveles de resistencia a CL mostraron un leve disminución 28 a 22%. Entre las ETEC se detectó un incremento en la resistencia a AMP, NAL, CIP and AMC, aumentando respectivamente de 43 a 51%; 6 a 18%; 1 a 6%; 0 a 6%, en tanto que la resistencia a CL disminuyó de 20 a 15%. Los niveles de resistencia de TET y TS no presentaron grandes diferencias, sin embargo los resultados sugieren una leve tendencia a incrementar la resistencia a ambos antibióticos 57 a 60% y 50 a 52% respectivamente.

**Conclusiones:** Se observa una tendencia a aumentar la resistencia de AMP, AMC, NAL Y CIP en cepas diarreogénicas de *E. Coli* causantes de diarrea del viajero. Es importante destacar el elevado aumento en la resistencia a CIP ya que es un agente antimicrobiano considerado de elección para el tratamiento de la diarrea del viajero.

## 229

### ESTUDIO DE LA RESISTENCIA DE *CAMPYLOBACTER* A ANTIMICROBIANOS EN CEPAS AISLADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA

L. Amselem, J. Galiano, B. Gomila, A. Echeita, J.A. López-Portoles y M.E. Celades

**Objetivos:** Las infecciones intestinales por *Campylobacter spp.* son autolimitadas, pero a pesar de ello es necesario conocer su sensibilidad antibiótica para poder tratar adecuadamente los casos graves, teniendo en cuenta el aumento de la resistencia antibiótica de estas cepas. El objetivo de este estudio fue determinar la sensibilidad a 7 antimicrobianos frente a *C. jejuni* y *C. coli* aislados de heces.

**Material y métodos:** Se estudiaron 249 cepas (199 de *C. jejuni* y 50 de *C. coli*) aisladas, en año y medio, de heces diarréicas de niños del área 2 de Castellón de la Plana. Los antibióticos probados y sus puntos de corte para definirlos como resistentes fueron: eritromicina (CMI ≥ 8 mg/ml), ciprofloxacina (CMI ≥ 4 mg/ml), amoxicilina (CMI ≥ 32 mg/ml), amoxicilina-ácido clavulánico (CMI ≥ 32 mg/ml), gentamicina (CMI ≥ 16 mg/ml), cloranfenicol (CMI ≥ 32 mg/ml) y tetraciclina (CMI ≥ 16 mg/ml) Las muestras clínicas fueron sembradas en medio selectivo para *Campylobac-*

ter e incubadas en atmósfera microaerófila. Para la identificación de las colonias se les realizó una tinción de Gram, prueba de la oxidasa e hidrólisis del hipurato. Para determinar la CMI, se inoculó en placas de Mueller-Hinton con 5% de sangre de oveja, una suspensión en agua destilada de las colonias a una densidad óptica estándar de 0,5 McFarland, siguiendo los criterios de la NCCLS. Se depositaron las tiras de E-test de los antibióticos y se incubaron a 37°C, 48 horas en microaerobiosis.

**Resultados:** Todas las cepas fueron sensibles a amoxicilina-ácido clavulánico, pero 5 (30%) de *C. coli* y 71 (35,7%) de *C. jejuni* fueron resistentes a amoxicilina; Cinco (10%) cepas de *C. coli* y seis (3%) de *C. jejuni* fueron resistentes a eritromicina. Solamente 3 (6%) de *C. coli* presentaron resistencia a gentamicina frente a una cepa (0,5%) de *C. jejuni* y con respecto al cloranfenicol sólo dos cepas (1,5%) de *C. jejuni* y una (2%) de *C. coli* fueron resistentes. En cambio 40 (80%) de *C. coli* y 146 (73,4%) de las cepas de *C. jejuni* presentaron resistencia a tetraciclina. Por último, para ciprofloxacino presenta resistencia 48 (96%) de *C. coli* y 181 (81%) de *C. jejuni*.

**Conclusiones:** Es evidente la alta tasa de resistencia que presenta el *Campylobacter spp.* al ciprofloxacino, seguido de las tetraciclinas; en cambio los antimicrobianos más eficaces fueron amoxicilina-ácido clavulánico, gentamicina y cloranfenicol. Hay que destacar que todas las cepas fueron sensibles a amoxicilina-ácido clavulánico, pero un porcentaje de las cuales fueron resistentes a amoxicilina, lo que podría suponer algún tipo de producción de  $\beta$ -lactamasas. Con respecto a eritromicina, tratamiento de elección, su actividad frente a *Campylobacter spp.* en nuestro medio es similar a la encontrada en el resto de España.

## 230

### CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA Y RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE LOS DIFERENTES SEROTIPOS DE *SALMONELLA SPP.* PROCEDENTES DE ALIMENTOS

S. Valdezate, M. Arroyo, R. González-Sanz, R. Ramírez, S. Herrera-León, M.A. Usera y A. Echeita

LNRSSSE Laboratorio Nacional de Referencia de *Salmonella* y *Shigella*. C.N.M. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda, Madrid.

**Objetivos:** Estudio de la clonalidad y de la resistencia antimicrobiana presentada por diferentes serotipos de *Salmonella spp.* aislados en alimentos de consumo humano durante un período de 1 año.

**Material y métodos:** A partir de 380 cepas de *Salmonella spp.* recibidas para su análisis en el al LNRSSSE procedentes de todo el territorio nacional, se seleccionaron aquellas que no presentaban relación epidemiológica entre sí: Enteritidis (n = 96), Typhimurium (n = 53) y otros serotipos (n = 115). Se determinó la sensibilidad a 23 antimicrobianos (difusión en disco, NCCLS) y el fagotipo de Enteritidis (Ward) y Typhimurium (Anderson). En la caracterización molecular, se aplicó la electroforesis en campo pulsado (PFGE), con las condiciones: 40U de *XbaI*, pulsos 2s-64s, 6V/cm, 22h. 14°C (Salm-Gene).

**Resultados:** En las 96 cepas de Enteritidis analizadas, procedentes principalmente de huevos y derivados (27%) y de aves y derivados (24%), se detectaron 16 fagotipos (PT), con predominio del PT1 (39%) y se identificaron 9 pulsotipos, con un rango de similitud genética del 81-96%, con la aparición de un clon mayoritario (74%). En las 53 cepas de Typhimurium, procedentes en su mayoría de embutido y fiambre (21%), cerdo y derivados (15%) y de aves y derivados (15%), se detectaron 12 fagotipos, principalmente PT104 (28%) y U302 (19%) y se identificaron 13 pulsotipos, con un rango de similitud genética del 64-86%, con el predominio de un clon determinado (34%). Los porcentajes de resisten-

cia antimicrobiana (NCCLS, M100-S13) de las cepas de los serotipos Enteritidis (n = 96), Typhimurium (n = 53) y otros 49 serotipos diferentes (n = 115) fueron, respectivamente: ampicilina (8, 62 y 14%), espectinomicina (99, 87 y 100%), estreptomycinina (1, 53 y 59%), gentamicina (1, 4 y 0%), tobramicina (1, 4 y 0%), amikacina (1, 0 y 0%), netilmicina (1, 4 y 0%), ác. nalidíxico (41, 22 y 14%), tetraciclina (16, 72 y 31%), sulfamida (7, 62 y 21%), cotrimoxazol (7, 19 y 14%) y cloranfenicol (0, 51 y 9%). Todas las cepas resultaron ser sensibles al resto de  $\beta$ -lactámicos y a fluoroquinolonas, con excepción de 1 cepa monofásica (13, 23:ih:-) resistente a ciprofloxacino.

**Conclusión:** Alta clonalidad de las cepas alimentarias del serotipo Enteritidis, presentando un mayor índice de discriminación (ID) la fagotipificación (0,81) que el PFGE (0,44) y alta resistencia para el ác. nalidíxico (42%). Mayor eficiencia del PFGE en el serotipo Typhimurium, siendo similar el ID en ambas técnicas (0,86), destacando resistencias superiores al 50% para la ampicilina, estreptomycinina, tetraciclina, sulfamida y cloranfenicol. Las cepas de los otros serotipos presentaron menores porcentajes de resistencias.

## 231

### ESTUDIO DE LOS AISLAMIENTOS CLINICOS DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* IMPLICADOS EN INFECCIONES NOSOCOMIALES EN UN HOSPITAL DEL SERVICIO VASCO DE SALUD (OSAKIDETZA)

M.J. Canduela, E. Sevillano, F. Calvo, A. Umaman y L. Gallego

**Objetivo:** Analizar las características genéticas y el nivel de resistencia mostrada por los aislamientos de *A. baumannii* obtenidos en pacientes ingresados en el hospital de Sta Marina, Bilbao, durante el año 2002.

**Métodos:** Se analizaron un total de 86 aislamientos procedentes de 42 pacientes (15 del Servicio de Neumología, 18 de Medicina Interna y 9 de otros servicios). Las muestras fueron en su mayoría esputos (50) y escaras (27). La identificación se realizó mediante el sistema API20NE y se confirmó a nivel de especie mediante tRNA. La sensibilidad antibiótica se determinó mediante la técnica disco/placa frente a 15 antibióticos y las CMIs se realizaron a 6 de ellos siguiendo las indicaciones de la NCCLS. Para identificar la estructura clonal de la población se obtuvo DNA total para utilizar como molde en experimentos de PCR-Fingerprinting con los iniciadores M13 y ERIC2.

**Resultados:** Los antibióticos con menor nivel de sensibilidad fueron colistina (100%), ampicilina/sulbactam (54,6%), imipenem (29,3%) y tobramicina (28%). El menos activo fue cefotaxima (1,2%). Además se observó un elevado nivel de multiresistencia. Se identificaron 7 clones diferentes, siendo tres de ellos predominantes mostrando un perfil idéntico a los clones mayoritarios identificados en el año 1999 en el mismo hospital. De ellos, el clon I resultó ser el mayoritario (55 aislamientos de 31 pacientes (73%)). En los pacientes con más de 1 aislamiento (16) se comprobó que el mismo clon se mantenía a lo largo del tiempo y que el último aislamiento era siempre el más resistente. Dos de los tres pacientes con aislamientos desde el año 1999 mantenían el mismo clon. Observamos que tanto en el Servicio de Neumología como en Medicina Interna la prevalencia del clon I era significativa (87% y 89% respectivamente).

**Conclusiones:** Los aislamientos de *A. baumannii* pertenecían en su mayoría a un clon predominante, aislado en todos los servicios del hospital. Este clon, ha permanecido a lo largo del tiempo y se ha hecho prevalente desplazando al resto de los clones. Este fenómeno podría estar relacionado con el aumento de la resistencia de los aislamientos de este clon fundamentalmente a  $\beta$ -lactámicos y aminoglicósidos a lo largo del tiempo. De esto se deduce la necesidad de un riguroso seguimiento epidemiológico de estos aislamientos para su control.

## 232

### DIVERSIDAD CLONAL DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTOR DE $\beta$ -LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO EN UN HOSPITAL TERCIARIO EN MADRID

J. García Martínez, F. Chaves y J.R. Otero

Servicio de Microbiología. Hospital 12 de Octubre. Madrid.

**Introducción:** La resistencia a oximinocetolinas y monobactamas en *Klebsiella pneumoniae* se debe a menudo a  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) codificadas en plásmidos. Estas cepas se han asociado además a brotes en unidades como las de cuidados intensivos (UCI). El objetivo de este estudio fue conocer la diversidad clonal de *K. pneumoniae* productores de BLEEs (KPPB) aislados en nuestro hospital.

**Métodos:** Durante dos años y medio se recogieron todos los aislamientos de KPPB. La identificación y sensibilidad antibiótica se realizó mediante el sistema Wider®. La producción de BLEE se confirmó mediante los métodos de difusión con discos y E-test® con ceftazidima y cefotaxima con y sin ácido clavulánico. El genotipado se llevó a cabo mediante electroforesis en campos pulsados tras digestión con la enzima *Xba*I.

**Resultados:** Se recogieron 26 aislamientos de KPPB, 2 en 2001, 5 en 2002 y 19 en 2003, a partir de diferentes muestras clínicas, 10 exudados, 8 hemocultivos, 5 urocultivos, 2 secreciones respiratorias y 1 catéter vascular. Diez pertenecían a pacientes adultos, 2 en 2001, 4 en 2002 y 4 en 2003, mientras 16 se aislaron de pacientes pediátricos, 1 en 2002, y 15 en 2003, estos últimos entre los meses de Agosto y Noviembre, aislados de 13 pacientes de la Unidad de Neonatología (UN), 1 de la UCI Pediátrica y otro del servicio de Neurocirugía Pediátrica. Además, los 16 aislados procedentes de pacientes pediátricos se caracterizaron por ser resistentes a gentamicina y tobramicina, a diferencia de los aislados procedentes de pacientes adultos. Los 26 KPPB se agruparon en 14 genotipos diferentes; los 13 de la UN se incluyeron en un mismo grupo clonal, mientras que todos los demás aislados representaron patrones moleculares únicos.

**Conclusión:** El incremento del número de aislados en el último año fue debido a la diseminación de una cepa y probablemente de un plásmido que codificaba la resistencia a  $\beta$ -lactámicos de amplio espectro, gentamicina y tobramicina.

obtenidos en una semana (24-28 de noviembre de 2003) junto con un protocolo de datos epidemiológicos. Se realizó un estudio de identificación y sensibilidad a antimicrobianos con el sistema automatizado MicroScan (panel Combo Neg 1S). Como cepas control se utilizaron *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 27853. Para la determinación de los puntos de corte se aplicaron los criterios del NCCLS. El cálculo de los porcentajes de resistencia se realizó incluyendo también como resistentes a todos los aislados con CMI en el rango intermedio.

**Resultados:** En el estudio participaron 128 hospitales (75 de menos de 500 camas; 40 de 500- 1000; y 13 de > 1000). Estos hospitales sirven a una población estimada de 31.019.217 habitantes y disponen de 60.750 camas. Se obtuvieron 1.250 aislados de *P. aeruginosa*. El origen fue: sangre 37 (3%), orina 259 (21%), muestras respiratorias 399 (32%), y otros 555 (44%). La evolución de la resistencia a antimicrobianos (%) fue (1998/2003): piperacilina/tazobactam: 7/7; meropenem 8/13; ampicilina: 9/8; tobramicina: 10/11; piperacilina: 10/10; ticarcilina: 13/13; imipenem: 14/18; ceftazidima: 15/16; cefepima: 17/20; ciprofloxacino: 23/28; aztreonam: 23/23; ofloxacino: 30/37; gentamicina: 31/30.

**Conclusiones:** Se comprueba que en los últimos 5 años no ha habido cambios en general en la resistencia de *P. aeruginosa* a beta-lactámicos ni a aminoglucósidos, sin embargo, se ha observado un aumento del 5% en la resistencia a quinolonas y a carbapenemas. La realización periódica de estudios de prevalencia permite conocer la situación de un microorganismo y su resistencia a antimicrobianos en un momento dado (Estudio financiado por la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa).

## 234

### CONTRIBUCIÓN DE LA DISEMINACIÓN CLONAL Y DE LA SELECCIÓN DE MUTANTES DURANTE EL TRATAMIENTO EN LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS

C. Juan\*, O. Gutiérrez\*, J.I. Ayestarán\*\*, N. Borrell\*, J.L. Pérez\* y A. Oliver\*

\*Servicio de Microbiología, \*\*Servicio de Medicina Intensiva. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca.

**Objetivos:** Estudio de epidemiología molecular destinado a conocer la contribución de la diseminación de cepas entre pacientes y de la selección de mutantes durante el tratamiento, en la resistencia a antibióticos de *P. aeruginosa* en una UCI.

**Métodos:** Se recuperaron 216 aislados de *P. aeruginosa* de muestras clínicas de 102 pacientes ingresados en la UCI del Hospital Son Dureta, desde sep. 02 a nov. 03. La identificación y el estudio inicial de la sensibilidad a los antibióticos se realizó por el sistema WIDER. Además, se determinaron las CMI para ceftazidima (CAZ), cefepime (FEP), imipenem (IMP), meropenem (MER), ciprofloxacino (CIP) y tobramicina (TOB) por Etest. Para el estudio de epidemiología molecular (Electroforesis de Campo Pulsado, PFGE) se seleccionó el primer aislado de cada paciente y tipo de muestra clínica así como cualquier aislado posterior en el que se documentase resistencia adicional a algún antibiótico, analizándose un total de 160 aislados.

**Resultados:** Mediante PFGE se diferenciaron 82 clones de los que 65 (79,2%), se encontraron en un único paciente cada uno. Los 17 clones restantes se aislaron en 2 o más pacientes (11, 4, 1, y 1 clones en 2, 3, 4 y 5 pacientes, respectivamente). En 20 pacientes se aisló *P. aeruginosa* en más de un tipo de muestra, encontrándose el mismo clon en todas ellas en 16 de los pacientes. Con la excepción de IMP la resistencia primaria fue baja o moderada comparada con las tasas globales de resistencia (representadas

## 233

### SITUACIÓN ACTUAL DE LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EN ESPAÑA: SEGUNDO ESTUDIO DE PREVALENCIA (2003)

I. Sánchez-Romero, E. Cercenado, N. García-Escribano, J. García-Martínez, A. Pérez-Parra, E. Bouza y Grupo Español para el Estudio de Pseudomonas aeruginosa

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

**Introducción:** *Pseudomonas aeruginosa* presenta gran facilidad para adquirir mecanismos de resistencia, por lo que la vigilancia continuada es necesaria para conocer el estado de su resistencia a antimicrobianos. En 1998 se realizó el primer estudio de prevalencia de *P. aeruginosa* en España en el que participaron 136 hospitales con un total de 1.014 aislados. El objetivo de este segundo estudio es determinar la situación actual de la resistencia de *P. aeruginosa* a antimicrobianos y ver su evolución en los últimos 5 años.

**Material y métodos:** Se solicitó a los centros participantes el envío de todos los aislados significativos de *P. aeruginosa*

entre paréntesis) basadas en el total de los 216 aislamientos: 7,5% (24%), 6,5% (25%), 23,4% (31,9%), 11,2% (21,8%), 8,4% (18%) y 0% (1,8%) de los aislados para CAZ, FEP, IMP, MER, CIP y TOB, respectivamente. La mayor resistencia primaria a IMP se debió en parte a la diseminación de tres clones resistentes entre nueve pacientes. El desarrollo de resistencia durante el tratamiento antibiótico fue notable, ya que en 21 (20,6%) de los pacientes se obtuvieron aislados de *P. aeruginosa* con resistencia adicional al menos a uno de los antibióticos (15,5%, 17,5%, 8,7%, 8,7%, 8,7% y 1% de los pacientes para CAZ, FEP, IMP, MER, CIP y TOB respectivamente). En 20 (95%) de estos pacientes la resistencia se debió a la selección de mutantes y no al desplazamiento del clon sensible por otro más resistente.

**Conclusiones:** El patrón epidemiológico de la infección por *P. aeruginosa* en la UCI se caracteriza por una gran diversidad clonal con baja diseminación. El desarrollo de resistencia durante el tratamiento tiene un gran impacto en la resistencia global, mientras que la resistencia primaria es relativamente baja. Ante esta situación, la elección de tratamientos óptimos que eviten el desarrollo de resistencia parece un factor crucial para el control de la infección por *P. aeruginosa*.

## 235

### PORTADORES FECALES DE $\beta$ -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN PACIENTES HOSPITALIZADOS Y EN LA COMUNIDAD

A. Valverde, T.M. Coque, A. Rollán, F. Baquero y R. Cantón  
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid

**Introducción:** En los últimos años se ha producido un aumento significativo de las enterobacterias con  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE). La mayoría de los estudios epidemiológicos de portadores fecales de aislados con BLEE se han realizado durante brotes epidémicos y su investigación en situaciones no epidémicas o en individuos de la comunidad es escasa.

**Material y métodos:** 400 muestras fecales de 386 pacientes (76% ambulatorios) y 108 muestras fecales de igual número de voluntarios sanos (sin hospitalización o tratamiento antibiótico en los últimos 3 meses) obtenidas en 2003 se diluyeron en solución salina y plaquearon en agar de MacConkey suplementado con 1  $\mu$ g/ml de cefotaxima y ceftazidima, respectivamente. La presencia de BLEE se analizó mediante el método de doble difusión en disco y E-test. La relación de clonalidad entre los aislados se determinó por campo pulsado (*Xba*I-PFGE). Las BLEE se caracterizaron mediante IEF, PCR y secuenciación.

**Resultados:** Los portadores fecales de enterobacterias productoras de BLEE en pacientes hospitalizados durante situaciones no epidémicas representan un 11,8% mientras que para los pacientes ambulatorios este dato fue del 5,5%. Esta cifra fue ligeramente superior a la observada en los voluntarios sanos (3,7%). La caracterización de BLEE reveló una gran diversidad de las mismas: TEM-4, SHV-12, CTX-M-9, CTX-M-14 y CTX-M-10. Los aislados productores de enzimas de tipo CTX-M fueron mayoritarios en los pacientes extrahospitalarios (11/16), mientras que en los voluntarios sanos fueron de tipo SHV (2/4). La resistencia a antibióticos no beta-lactámicos en los aislados hospitalarios/extrahospitalarios fue: estreptomina (50/50%), ácido nalidixico (42/55%), ciprofloxacina (8/35%), sulfametoxazol (66/80%), trimetoprim (42/50%) y tetraciclina (8,3/50%).

**Conclusiones:** El elevado porcentaje de portadores fecales de enterobacterias productoras de BLEE en pacientes hospitalizados y su hallazgo en individuos de la comunidad, incluyendo voluntarios sanos sin exposición previa a antibióti-

cos o contacto nosocomial, revela una amplia diseminación de las BLEE y justifica el aumento observado en los últimos años en muestras con relevancia clínica.

## 236

### EVOLUCIÓN DEL CONSUMO Y DE LA RESISTENCIA A QUINOLONAS EN LA COMUNIDAD EN ESPAÑA

E. Lázaro\*, J. Oteo\*\*, G. Baquero\*\*, F.J. de Abajo\* y J. Campos\*\*

\*Agencia Española del Medicamento, \*\*Centro Nacional de Microbiología, Ministerio de Sanidad y Consumo, Majadahonda, Madrid.

**Objetivos:** 1) Conocer la evolución del consumo total de quinolonas y por principio activo en la comunidad de 1998 a 2002, así como la distribución mensual del consumo por principio activo en 2002; 2) estudiar la resistencia a ciprofloxacino en aislamientos invasores de *Escherichia coli* (ECO) y *Streptococcus pneumoniae* (SPN) adquiridos en la comunidad de 2001-2003.

**Material y métodos:** La información del consumo se obtuvo de la base de datos del Ministerio de Sanidad en la que se recogen los antibióticos facturados a nivel extrahospitalario con cargo al Sistema Nacional de Salud, y se expresó en forma de DDD/1000 habitantes/día. Los datos de resistencia de los patógenos adquiridos en la comunidad se obtuvieron de la red española de EARSS en la que participan 40 hospitales españoles con una representación de las principales regiones españolas proporcional a su número de habitantes. Se consideró resistencia a ciprofloxacino en SPN una CMI > 2 mg/L.

**Resultados:** El consumo total de quinolonas aumentó de 2,18 a 2,61 DDD/1000 hab./día entre 1998 y 2002 (19,7%), mientras que el consumo global de antibióticos disminuyó un 9%. Las quinolonas más consumidas fueron ciprofloxacino (CIP) y norfloxacino (NOR) con una media de consumo anual de 1,09 y 0,61 DDD/1000 hab./día, respectivamente. El consumo de CIP se mantuvo estable (1,07 en 1998 vs. 1,10 en 2002), el de NOR descendió de 0,67 en 1998 a 0,53 en 2002, y el levofloxacino (LVF) y moxifloxacino (MXF) aumentó de 0,01 en 1998 a 0,34 en 2002, y de 0,16 en 2000 a 0,34 en 2002, respectivamente. El porcentaje de variación en el consumo de NOR, CIP, LVF y MXF entre los meses con menor y mayor consumo en 2002 fue del 6,1%; 18,4%; 120,8% y 286,6%, respectivamente. La resistencia a CIP en ECO invasores adquiridos en la comunidad en 2001, 2002 y 2003 fue del 12,7%; del 16,6% y del 19,2%, respectivamente. En SPN, la resistencia a CIP aumentó del 0,4% en 2001 al 4% en 2003.

**Conclusiones:** 1) Se ha observado una tendencia al aumento del consumo de quinolonas en los últimos años sobre todo de LVF y MXF. 2) El consumo de LVF y MXF presentó importantes variaciones estacionales en 2002 probablemente debido a su utilización en patología respiratoria. 3) La resistencia a fluoroquinolonas en ECO y SPN invasores adquiridos en la comunidad ha aumentado significativamente en los últimos años.

## 237

### RESISTENCIAS PRIMARIAS (RP) DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* EN UN HOSPITAL DE CASTILLA-LEÓN: EVOLUCIÓN HISTÓRICA

S. Jiménez, P. Pascual, C. Avellaneda, M. Martín, P. Pérez Pascual y A. Alberte

Microbiología. Hospital Universitario Río Hortega. Valladolid.

**Objetivos:** Se evalúan los resultados de la RP durante el periodo 1998-2002, comparándolos con un control histórico (1978-97) de 520 cepas.

**Material y métodos:** Se procesaron 223 cepas, casos nuevos, no tratados previamente, utilizando el sistema

MB/BacT<sup>®</sup>, siguiendo las instrucciones del fabricante, consiguiendo en cada vial las concentraciones antibióticas siguientes: estreptomycin (S), 1 mcg/ml; isoniacida (I), 1 mcg/ml; rifampicina (R), 1 mcg/ml y etambutol (E), 2 mcg/ml. Dos viales sin antibióticos sirvieron de control, uno de ellos se inoculó con una dilución 1/100 del inicial. El control histórico utilizó el método de las proporciones.

**Resultados:** De las 223 cepas testadas, 19 mostraron resistencia a uno ó más fármacos antituberculosos (Resistencia primaria = 8,5%). La resistencia global fue: a S, 4,5%; a I, 2,7%; a R, 0%; a E, 3,1%. 16 cepas (7,2%) mostraron resistencia simple. Durante el *periodo histórico* se observaron 37 cepas con algún tipo de resistencia (RP = 7,1%). La resistencia a los diferentes fármacos fue: a S, 3,6%; a I, 3,6%, a R, 0,2% y a E, 1%. La resistencia simple de este periodo fue de 5,8%

**Conclusiones:** Del análisis de ambas etapas se constata que: 1) Los valores de RP son similares, no existiendo diferencias significativas. 2) Existe una tendencia descendente en la resistencia a isoniacida, observándose un efecto contrario en etambutol. 3) No se han observado, hasta el momento actual cepas con multirresistencias a rifampicina e isoniacida. 4) El conocimiento de la RP en un entorno posibilita la elección más idónea de la quimioterapia antituberculosa y un control epidemiológico más eficaz.

## 238

### RESISTENCIA PRIMARIA DE *M. TUBERCULOSIS* DURANTE EL PERÍODO 2000-2003 EN EL HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO DE ALICANTE

A. Sánchez, L. Navarro, I. Vidal, R. Serrano y J. Plazas

Sección de Microbiología. Hospital General Universitario de Alicante.

**Introducción:** El tratamiento de la tuberculosis como emergencia global de salud pública, fracasa por resistencia a los fármacos, por un régimen inapropiado o por falta de cumplimiento. La resistencia a los agentes antituberculosos es primaria cuando está presente antes de iniciar el tratamiento y secundaria cuando surge en la circunstancia de un tratamiento prescrito o administrado inapropiadamente.

**Objetivo:** Conocer la prevalencia de *M. tuberculosis* resistente en primoinfecciones durante el período de tiempo 2000-2003.

**Material y método:** Son analizados los resultados de las pruebas de susceptibilidad realizadas a todos los cultivos positivos para *M. tuberculosis*, durante el período de estudio. Los cultivos se realizaron en medio sólido de Löwenstein-Jensen y medio líquido de Middlebrook, mientras que las pruebas de susceptibilidad fueron realizadas por medios radiométricos líquidos. Los agentes antituberculosos testados han sido: estreptomycin, isoniazida, rifampicina, etambutol y pirazinamida.

**Resultados:** De un total de 200 pacientes con cultivo positivo, un 96,5% (193) presentaban primoinfección, mientras que en un 3,5% (7) la primoinfección fue anterior al período de estudio, siendo en todos los casos el patrón de susceptibilidad el mismo que el primario. Un 87,5% (175) de los pacientes mostraban sensibilidad a todos los agentes antituberculosos mientras que un 12,5% (25) eran resistentes al menos a un fármaco. De éste último grupo, un 72% (18) eran resistentes a un sólo antituberculoso mientras que un 28% (7) lo eran a más de un agente. Un 2,5% (5) del total de *M. tuberculosis* presentaban multirresistencia (a isoniazida y rifampicina), de los cuales, dos eran resistentes además a un tercer agente, pirazinamida.

**Conclusiones:** El índice de resistencias en nuestra área fue de 12,5% y la multirresistencia del 2,5%. El antituberculoso con mayores resistencias fue la isoniazida con un 8,5% (17) y el de menores resistencias el etambutol, dado que no se ha encontrado ninguna cepa resistente al mismo, aunque sí un 1,5% (3) con sensibilidad intermedia.