

Sesión 17

Epidemiología de la resistencia a antimicrobianos. Estudios de vigilancia de la resistencia (III)

253

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE CEPAS DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTORAS DE BETALACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)

L. Calatayud, F. Tubau, M. A. Domínguez, C. Ardanuy, J. Ayats, C. Peña, J. Liñares y R. Martín

Servicios de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona. IDIBELL.

Objetivos: Determinar la prevalencia de infección/colonización por cepas de *E. coli*-BLEE (EC-BLEE) en pacientes atendidos en nuestro hospital. Estudio de la sensibilidad antibiótica, caracterización fenotípica y genotípica de estas cepas.

Métodos: Se estudiaron las cepas de EC-BLEE aisladas en pacientes atendidos en el Hospital Universitari de Bellvitge (2000-2005). Sólo se incluyó una cepa por paciente. El cribado de la producción de BLEE se realizó por la técnica de sinergia de doble disco. La identificación de especie y la determinación de la sensibilidad antibiótica se realizaron por el sistema MicroScan. Las BLEEs se caracterizaron por isoelectroenfoque y PCR. Los microorganismos se genotiparon por electroforesis en campo pulsátil (ECP) tras restricción con *Xba*I.

Resultados: Se aisló EC-BLEE de muestras clínicas de 362 pacientes. El porcentaje global de EC-BLEE entre las cepas de *E. coli* aisladas en 2000-2005 fue del 2,2%, observándose un aumento progresivo de EC-BLEE del 1,1% en 2000 al 3,5% en 2005 ($p < 0,05$). El origen de las muestras fue el siguiente: 59% orina, 14% sangre, 8% herida, 5% respiratorio y 14% otros orígenes. La distribución de los pacientes por servicios fue: 118 (32%) estuvieron ingresados en Unidades Médicas, 109 (30%) en Unidades Quirúrgicas, 100 (28%) en Urgencias y 35 (10%) en UCI. Entre las 230 cepas seleccionadas para la caracterización de BLEEs, se detectó el gen *bla*_{CTX-M-9} en 157 (68%) cepas, el gen *bla*_{SHV} en 22 (10%) cepas, ambos genes (*bla*_{CTX-M-9} y *bla*_{SHV}) en 4 (2%) cepas y el gen *bla*_{TEM} en las 47 (20%) cepas restantes. Se identificaron 187 genotipos diferentes entre 190 cepas estudiadas por ECP. Sólo 6 cepas se agruparon en tres genotipos (con dos cepas cada uno).

Conclusiones: El aislamiento de cepas *E. coli*-BLEE en el Hospital Universitari de Bellvitge ha aumentado de forma significativa durante el periodo de estudio. CTX-M-9 es la familia de BLEE más frecuentemente identificada en EC-BLEE. La infección/colonización urinaria de adquisición co-

munitaria es el origen más frecuente de EC-BLEE. Existe una gran diversidad clonal entre las cepas de EC-BLEE aisladas en nuestra área geográfica.

254

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UN NUEVO CLON DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM) EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE BELLVITGE (HUB)

E. Cardeñoso, M.A. Domínguez, C. Borraz, F. Tubau, A. García, J. Liñares y R. Martín

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Bellvitge. Universitat de Barcelona. IDIBELL.

Introducción: Las cepas de SARM han ido experimentado cambios en la expresión de la resistencia a diferentes grupos de antibióticos en el HUB. Durante los años 1990-95 las cepas intrahospitalarias se caracterizaron por presentar resistencia a múltiples grupos antibióticos. Desde 1996 a 2003 se observó una disminución progresiva de estos clones multirresistentes, siendo reemplazados por cepas sensibles a un mayor número de antibióticos. Sin embargo, en 2004 se detectaron cepas con un nuevo perfil de resistencia (PR) antibiótica múltiple, que se han diseminado rápidamente en el HUB.

Objetivos: Analizar la frecuencia con la que se aíslan estas nuevas cepas multirresistentes durante 2004-2005, realizar la caracterización molecular de las mismas y comparar su perfil genético con clones endémicos contemporáneos e históricos en el HUB.

Métodos: La identificación de las cepas se llevó a cabo mediante aglutinación en látex (Pastorex[®], BioRad) y detección de DNAsa. La sensibilidad antibiótica se estudió mediante disco-difusión en todas las cepas SARM aisladas. La caracterización molecular de las cepas con nuevo PR se hizo mediante: 1) electroforesis en campo pulsátil (ECP); 2) estudio del SCCmec (*staphylococcal chromosomal cassette mec*), mediante amplificación por PCR de los elementos descritos en la región cromosómica correspondiente y 3) detección de Leucocidina de Pantón-Valentine por PCR.

Resultados: Durante 2004 y 2005, el 25% y el 22% de los *S. aureus* fueron resistentes a meticilina, respectivamente. En 2004 se detectó un nuevo PR (resistente a eritromicina, clindamicina, gentamicina, tobramicina, ciprofloxacino y rifampicina) que representó el 25% de las cepas de SARM aisladas en HUB (71/282) y en 2005 ascendió al 33% (79/238). La mayoría de las nuevas cepas SARM se caracterizaban por presentar una aglutinación incompleta o negativa en la prueba de detección de *clumping factor*. Por ECP se estudiaron 101 cepas de este nuevo perfil de resistencia, todas fueron idénticas entre sí y diferían de cualquier otro clon endémico contemporáneo o histórico; presentaban un SCCmec tipo I y no producían LPV.

Conclusiones: Aparición de un nuevo clon de SARM multirresistente que se ha diseminado de forma muy efectiva en nuestro hospital entre pacientes infectados, colonizados y portadores sanitarios sanos. Se trata de un clon nuevo, distinto por ECP de los clones hospitalarios endémicos clásicos.

255

TIPIFICACIÓN MEDIANTE ELECTROFORESIS DE CAMPO PULSÁTIL DE CEPAS DE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* AISLADAS EN MUESTRAS CLÍNICAS (2000-2004)

J. Ayats, C. Ardanuy, E. Pérez, F. Tubau, L. Calatayud, J. Liñares y R. Martín

Servicio de Microbiología del Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona. IDIBELL.

Objetivo: Estudio de la sensibilidad antibiótica y caracterización molecular de las cepas de *Enterococcus faecium* (EFM) aisladas en el Hospital Universitari de Bellvitge.

Metodología: La identificación y el estudio de la sensibilidad antibiótica se realizó mediante el método automatizado MicroScan. La tipificación molecular se realizó por electroforesis en campo pulsátil (ECP) tras restricción con SmaI.

Resultados: Durante el periodo del estudio (2000-2004), se aislaron 365 cepas de EFM (una por paciente). El 90% de los aislamientos procedían de pacientes hospitalizados, el 29% de éstos se encontraban en Servicios Quirúrgicos y el 20% en UCI. El origen de las muestras fue: orina 35%, muestras abdominales 18%, sangre 16%, herida 14% y miscelánea 17%. Los porcentajes de resistencia antibiótica fueron los siguientes: 60% a ampicilina (AMP), 59% a ciprofloxacino, 0,5% a vancomicina (VAN) y 0,5% a teicoplanina (TEI) 0,5%. En estas 2 cepas resistentes a VAN y TEI, se detectó la presencia del gen *vanA* mediante PCR. El 55% de las cepas presentaron alto nivel de resistencia a la estreptomocina (ARE) y el 8% alto nivel de resistencia a la gentamicina. Se seleccionaron 247 cepas para realizar la ECP y se identificaron 165 patrones distintos. Aunque un genotipo mayoritario (EFM-1) agrupó al 29% de las cepas estudiadas, 155 (63%) diferentes patrones de ECP se asociaron a 155 cepas distintas. El genotipo mayoritario (EFM-1) resistente a AMP se encontró en el 16% de las cepas aisladas en el período 2000-02 frente al 42% de las cepas aisladas en el período 2003-04 ($p < 0,001$). El 66% de los aislamientos pertenecientes al genotipo EFM-1 procedían de muestras de pacientes ingresados en la UCI, Cirugía General, Digestivo y Urología.

Conclusión: La mayoría de las cepas de *Enterococcus faecium* fueron resistentes a AMP y presentaron ARE. Entre las cepas sensibles a AMP se observó una gran diversidad de patrones de EPC, mientras que una tercera parte de las cepas resistentes a AMP pertenecieron al mismo genotipo (EFM-1). La prevalencia de este genotipo resistente se ha triplicado en el último período del estudio, sugiriendo una diseminación clonal de *Enterococcus faecium* en nuestro hospital. La resistencia a glicopéptidos es muy rara en nuestro medio y está mediada por el gen *vanA*.

256

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE CEPAS DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE)

L. Calatayud, C. Ardanuy, F. Tubau, J. Ayats, M.A. Domínguez, C. Peña, M. Pujol, J. Liñares y R. Martín

Servicios de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona. IDIBELL.

Objetivos: Determinar la prevalencia de infección/colonización por cepas de *K. pneumoniae*-BLEE (Kpn-BLEE) en pacientes atendidos en nuestro hospital. Estudio de la sensibilidad antibiótica, caracterización fenotípica y genotípica de estas cepas.

Material y métodos: Se estudiaron las cepas de Kpn-BLEE aisladas de pacientes atendidos en el Hospital Universitario de Bellvitge desde Enero de 2000 a Diciembre de 2005. Sólo se incluyó una cepa por paciente. El cribado de la producción de BLEE se realizó por la técnica de sinergia de doble disco. La identificación de especie y la determinación de la sensibilidad antibiótica se realizaron por el sistema MicroScan. Las BLEEs se caracterizaron por isoelectroenfoque, PCR y secuenciación. Los microorganismos se genotiparon por electroforesis en campo pulsátil (ECP) tras restricción con *Xba*I.

Resultados: Se aisló Kpn-BLEE en muestras clínicas de 121 (5,2%) pacientes del total de 2330 infectados/colonizados por *K. pneumoniae* durante el periodo de estudio, observándose una disminución progresiva del 9,8% en 2000 al 3,9% en 2005 ($p < 0,05$). La distribución de estos pacientes por servicios fue la siguiente: 42% en UCI, 28% en Unidades Médicas, 23% en Unidades Quirúrgicas y 7% en Urgencias. La caracte-

rización molecular de las BLEEs se realizó en 75 cepas seleccionadas: 70 (93%) produjeron una BLEE de la familia SHV, 2 (3%) cepas una BLEE de la familia CTX-M-9 y 3 (4%) cepas produjeron BLEEs de ambas familias. Por ECP se identificaron 38 genotipos diferentes entre las 75 cepas estudiadas. Se encontró una cepa epidémica (genotipo K12) productora de una BLEE de tipo SHV-2, que agrupó al 45% de las cepas estudiadas y que presentaba resistencia a gentamicina, tobramicina y ciprofloxacino. El 62% de los aislamientos de este genotipo se aislaron de pacientes ingresados en la UCI. Dos cepas pertenecieron a un mismo genotipo (K4) y se aislaron de pacientes ingresados en el servicio de Cirugía Digestiva. El resto de las cepas pertenecieron a genotipos no relacionados.

Conclusiones: La prevalencia de *K. pneumoniae*-BLEE ha disminuido de forma progresiva en los últimos años en nuestro hospital. A lo largo del periodo de estudio se detectó la presencia de un clon epidémico productor de SHV-2, responsable de infección/colonización en pacientes ingresados en UCI, lo que sugiere una diseminación nosocomial de este clon por transmisión cruzada.

257

ENTEROCOCCUS FAECALIS Y ENTEROCOCCUS FAECIUM: SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA Y TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE LAS CEPAS CAUSANTES DE BACTERIEMIA EN EL PERÍODO 2002-2004

J. Ayats, C. Ardanuy, E. Pérez, M. Císnal, F. Tubau, L. Calatayud, J. Liñares y R. Martín

Servicio de Microbiología. Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona. IDIBELL.

Objetivos: Estudio de la sensibilidad antibiótica y caracterización molecular de las cepas de *E. faecalis* y *E. faecium* aisladas en hemocultivos.

Metodología: La identificación y el estudio de sensibilidad se realizaron por el sistema MicroScan. La detección de β -lactamasa se realizó mediante el disco de nitrocefina. La tipificación molecular se realizó mediante electroforesis en campo pulsátil (ECP) tras restricción con SmaI. Las cepas con resistencia a vancomicina se estudiaron mediante PCR para la detección de los genes *vanA* y *vanB*.

Resultados: Durante el periodo de 2002-2004 se aislaron 212 cepas de *E. faecalis* (EF) y 34 cepas de *E. faecium* (EFM) en hemocultivos (una cepa por paciente). La mayoría de los enterococos se aislaron en pacientes ingresados en UCI (51% de los EF y 41% de los EFM). Los porcentajes de resistencia a los antibióticos fueron los siguientes: ampicilina (EF 0% y EFM 68%), vancomicina (EF 0% y EFM 3% con gen *vanA* positivo), ciprofloxacina (EF 24% y EFM 74%), alta resistencia a estreptomocina (EF 42% y EFM 50%) y alta resistencia a gentamicina (EF 26% y EFM 3%). Las 150 cepas de *E. faecalis* estudiadas por ECP se agruparon en 94 patrones distintos. Veintidós (15%) cepas de *E. faecalis* pertenecieron a un genotipo mayoritario (EF-5), 10 de ellas se aislaron de hemocultivos de pacientes de UCI. Otros genotipos de *E. faecalis* fueron el EF-6 (5%) con 8 cepas, el EF-19 (5%) con 7 cepas, el EF-51(3%) con 4 cepas. También se detectaron en *E. faecalis* 2 patrones de ECP con 3 cepas cada uno y 15 patrones de ECP con 2 cepas cada uno. Entre las 27 cepas de *E. faecium* estudiadas se encontraron 16 genotipos diferentes, siendo el genotipo EFM-1 el clon mayoritario, al que pertenecieron el 44% de las cepas de *E. faecium*.

Conclusión: Las cepas de *E. faecalis* procedentes de hemocultivos mostraron una gran diversidad de patrones por ECP y todas fueron sensibles a vancomicina y a ampicilina; mientras que la mayoría de las cepas de *E. faecium* fueron resistentes a ampicilina y quinolonas y más de un tercio de ellas pertenecieron al mismo genotipo, lo que sugiere una posible diseminación clonal.

TIPIFICACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* AISLADAS DE NIÑOS CON OTITIS EN BARCELONA (1992-2003)

C. Ardanuy, A. Gené, E. Pérez, E. Palacin y J. Liñares
G03/103 Hospital Universitari de Bellvitge, Universitat de Barcelona, IDIBELL. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona.

Antecedentes y objetivo: *S. pneumoniae* es causa frecuente de otitis en niños. El objetivo de este estudio es analizar la importancia de clones internacionales multirresistentes entre los neumococos que causan otitis en niños.

Métodos: Se han estudiado 265 neumococos aislados de niños con otitis durante los años (1992-2003). Serotipificación de los aislamientos. Estudio de la sensibilidad antibiótica por disco difusión (penicilina (PEN), eritromicina (ERI), clindamicina (CLI), tetraciclina (TET), cloranfenicol (CLO) y cotrimoxazol (SxT)). Tipificación molecular mediante electroforesis in campo pulsátil (ECP) tras restricción con *Sma*I y *Apa*I.

Resultados: Los porcentajes de resistencia (R) antibiótica fueron: PEN 77%, ERI 52%, CLI 50%, CLO 42%, TET 65% y SxT 75%. El 59% de las cepas presentaron resistencia a 4 o más grupos de antimicrobianos. Los serogrupos más frecuentes fueron: 19 (28%), 6 (25%), 14 (15%) y 23 (13%). Las 260 cepas estudiadas generaron 87 genotipos diferentes. Los patrones de ECP relacionados con los clones internacionales Spain^{6B}-2 (16%), Spain^{9V}-3 (13%), clon C del serogrupo 19 con ST88 (12%) y Spain^{23F}-1 (10%) agrupan al 51 % de las cepas. Las cepas PEN-R pertenecieron a 6 serotipos, mientras que las PEN-S pertenecieron a 18 serotipos. Se encontraron 48 genotipos entre las 199 cepas PEN-R estudiadas, el 79% de éstas se agruparon en 7 clones internacionales (Spain^{23F}-1, Spain^{6B}-2, Spain^{9V}-3, Spain¹⁴-5, Poland^{6B}-20, Sweden^{15A}-25 y clon C del serogrupo 19-ST88). Estos 7 clones agruparon al 75% de las cepas resistentes a 4 o más grupos de antimicrobianos. Las 60 cepas PEN-S estudiadas se distribuyeron en 41 genotipos diferentes, 30 (50%) de ellos estuvieron representados por un solo aislamiento. El 68% de las cepas del clon Spain^{9V}-3 eran del serotipo 14 y el 3% pertenecían al serogrupo 19, lo que demuestra un intercambio capsular, que también se observó en el 12% de las cepas del clon Spain^{23F}-1 que eran del serogrupo 19. Asimismo el 82% de las cepas del clon Sweden^{15A}-25 fueron serogrupo 19 y el 9% del serotipo 23F.

Conclusión: Más de la mitad de las otitis neumocócicas infantiles diagnosticadas en Barcelona en un periodo de 11 años están causadas por cuatro clones internacionales con multirresistencia antibiótica. El intercambio capsular es un hecho frecuente dentro de estos clones.

STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE: PREVALENCIA, VARIACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y SEROTIPOS MÁS FRECUENTES OBTENIDOS EN MUESTRAS INVASIVAS DURANTE 6 AÑOS EN EL ÁREA SANITARIA 10 DE MADRID

P. Díez-Ferrero, J. Cacho, F.J. Pérez-Millán, A. García-Cañas y M. Sánchez-Concheiro
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Getafe. Getafe. Madrid.

Objetivo: Estudiar la prevalencia y los serotipos más frecuentes de *Streptococcus pneumoniae* en muestras invasivas y analizar la variación en la sensibilidad antibiótica.

Material y métodos: Se incluyeron 157 cepas de *S. pneumoniae* aisladas de sangre y líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes ingresados en el Hospital Universitario de Getafe, durante el periodo 2000-2005, ambos inclusive. Se estudió la sensibilidad a los siguientes antibióticos: penicilina, cefotaxima, vancomicina, levofloxacino y meropenem. Para su estudio se realizó la técnica de microdilución utilizando el

panel Wider 1W (Soria Melguizo) y para su interpretación se siguieron los criterios del NCCLS. El serotipado se realizó en el Laboratorio de Referencia de Neumococos del Instituto de Salud Carlos III.

Resultados: El número de aislados ha aumentado en este periodo (14,6% en 2000, 24,2% en 2005). El 14,6% del total de las cepas se aislaron en muestras pediátricas y, de éstas, el 39% se obtuvieron en el 2005. Las muestras obtenidas de LCR suponen un 10% del total, obteniéndose un 43,7% de las mismas, en el año 2005. El porcentaje de sensibilidad disminuida a la penicilina fue del 34,6%, observándose una tendencia creciente hasta el 2003: 2000 (35%), 2001 (39%), 2002 (42%), 2003 (45%). En el 2004 disminuye (16%) para volver a aumentar en el 2005 (37%). Un 1,3% presentaron sensibilidad disminuida a la cefotaxima y al levofloxacino y un 18% al meropenem, presentando, éste último, la misma tendencia descrita para la penicilina. El 100% fueron sensibles a vancomicina. Se encontraron 27 serotipos distintos, 11 de los cuales, representan el 78% del total. Los más frecuentes fueron el 3 (15%), 14 (13%) y el 4 (12%) en adultos y el 1 (30%) en niños. El 82% del serotipo 14 presentó resistencia de alto nivel a la penicilina; mientras que el 100% de los serotipos 3, 4 y 1 fueron sensibles.

Conclusiones: Se observa un aumento de aislados de *S. pneumoniae* en muestras invasivas. En el 2005 se detecta un aumento, en concreto, en niños y en LCR. La resistencia a la penicilina es muy elevada, presentando una tendencia creciente, aunque en el 2004 se observara una disminución de la misma. Este hecho se repite con el meropenem. En nuestra área, prácticamente, no tenemos resistencias a la cefotaxima y al levofloxacino. Los serotipos predominantes varían según la edad y se encuentra una asociación entre ciertos serotipos y la resistencia a la penicilina.

DISPERSIÓN NOSOCOMIAL ALODÉMICA DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTORA DE SHV-12 ASOCIADA A DIFERENTES PLÁSMIDOS

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

Introducción y objetivo: *Klebsiella pneumoniae* productora de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) ha aumentado en los últimos años, así como los aislados con enzimas de tipo SHV-12. El objetivo de este trabajo es conocer la estructura poblacional de los aislados de *K. pneumoniae* con SHV-12, su asociación plasmídica y dispersión en nuestro hospital.

Material y métodos: Se estudiaron todas las cepas de *K. pneumoniae* (n = 97) productoras de BLEE recogidas en nuestro hospital entre los años 2001 y 2004. La caracterización de las BLEE se realizó mediante IEF, PCR y secuenciación y se analizó la clonalidad de los aislados mediante *Xba*I-PFGE. Se obtuvieron transconjugantes por transferencia en medio sólido y líquido. El análisis plasmídico en los transconjugantes se realizó mediante digestión con S1 nucleasa y posterior RFLP con EcoRI y PstI. Las resistencias asociadas a antibióticos no β -lactámicos se determinaron mediante difusión con discos.

Resultados: Las 97 cepas de *K. pneumoniae* se obtuvieron de 64 pacientes. Se caracterizó una cepa por paciente y de éstas 14 presentaban SHV-12 (21,8%). La distribución por áreas fue: 50% médica, 21,4% UCI, 21,4% quirúrgica, y 14,3% extrahospitalaria. Un 71,4% de los aislados productores de SHV-12 (n = 10) pertenecía al mismo clon (Kp49S), que fue aislado en nuestra institución desde 2001 hasta 2003, mayoritariamente en el área quirúrgica (50%) y en menor proporción en pacientes extrahospitalarios (10%). El análisis plasmídico en este clon reveló la presencia de un mismo plásmido de 60 Kb (pRYCE28). El resto de los clones (Kp50S, Kp63S, Kp76S y Kp75S) presentaban plásmidos con un peso molecular aproximado de 60 Kb, posiblemente relacionados, y con frecuencias de conjugación variables (10^{-3} - 10^{-9}). Mientras que todos los aislados del clon mayoritario fueron sólo

resistentes a sulfamidas y trimetoprim, el resto de los clones presentó un perfil de co-resistencia variable.

Conclusiones: Se ha detectado la presencia de diferentes clones de *K. pneumoniae* productores de SHV-12 asociados a distintos plásmidos. Aunque este hecho sugiere una situación alodémica en nuestro hospital, se observó un clon mayoritario epidémico asociado a un plásmido persistente en el tiempo en distintos compartimentos.

261

SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN MUESTRAS GENITALES DE GESTANTES EN MALLORCA

P. Díaz, V. Fernández-Baca, M. Garau, M. Pérez y C. Gallegos
Servicio de Microbiología, Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca.

Objetivos: Conocer la sensibilidad antibiótica de cepas de *Streptococcus agalactiae* (SGB) aisladas de gestantes de nuestra zona sanitaria durante el 2005.

Material y métodos: Se estudió la sensibilidad antibiótica de 238 cepas de SGB frente a Penicilina (PEN), Levofloxacin (LEV), Vancomicina (VAN), Eritromicina (ERI), Clindamicina (CLI) y Telitromicina (TEL) mediante técnica de disco-difusión en placas de Mueller-Hinton y sangre de cordero al 5% (MHS). El inóculo se preparó en suero fisiológico al 0.5 McFarland. Las placas se incubaron a 37°C en 5% de CO₂ y la lectura se efectuó a las 24h. Para la interpretación de la sensibilidad se aplicaron los criterios de la CLSI del 2005, excepto para la TEL que se siguieron las recomendaciones de la SFM del 2005. A las cepas resistentes a ERI, CLI o TEL se les practicó estudio de fenotipo de resistencia mediante técnica de disco-difusión en agar MHS utilizando discos de CLI, ERI y TEL dispuestos en este orden a una distancia de 15 a 20 mm del disco de ERI. La resistencia a ERI y CLI indica un fenotipo de resistencia constitutivo (MLS_B constitutivo) mientras que la resistencia a ERI y la sensibilidad a CLI, con un estrechamiento en forma de D en la zona de inhibición de CLI próxima al disco de ERI indica una resistencia inducible (MLS_B inducible). Cuando el microorganismo se mantiene resistente a ERI y sensible a CLI sin producirse inducción indica fenotipo de resistencia M.

Resultados: Todas las cepas fueron sensibles a PEN, LEV y VAN. La resistencia a ERI fue del 15,12% (36/238), a CLI 10,08% (24/238) y a TEL del 0,42% (1/238). 21 cepas mostraron un fenotipo de resistencia MLS_B constitutivo, 12 cepas MLS_B inducible, 3 fenotipo M y 3 fueron resistentes a CLI y sensibles a ERI. 13 cepas sensibles a TEL (todas ellas con fenotipo MLS_B constitutivo) mostraron inducción de resistencia a este antibiótico al enfrentarlas a ERI.

Conclusiones: a) El porcentaje de resistencia a ERI y CLI justifica seguir la recomendación de testar la sensibilidad a estos antimicrobianos en cepas de SGB de gestantes alérgicas a β lactámicos. b) Destacamos el elevado nº de cepas de SGB con fenotipo MLS_B inducible y la importancia de determinar el mecanismo fenotípico de resistencia para conocer la sensibilidad real a CLI (15,12%). c) Es necesario estudiar el mecanismo de acción de la inducción de resistencia a TEL en cepas de SGB y su trascendencia in vivo.

262

EPIDEMIOLOGÍA Y SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADOS DE SANGRE EN LA PROVINCIA DE SEGOVIA

R. Caro¹, A. Carrero², I. León², J. Elizaga², S. Hernando¹, P. Carrero¹ y S. G-Carbajosa

¹Sección de Microbiología. Servicio de A. Clínicos

y ²Servicio de Medicina Interna del Hospital General de Segovia.

Objetivo: Describir características epidemiológicas y patrón de resistencia antibiótica de bacteriemias causadas

por *S. aureus* en la provincia de Segovia en 2003-2005, comparando cepas oxacilin sensibles (SAOS) y resistentes (SAOR).

Material y métodos: Estudio retrospectivo descriptivo de *S. aureus* en hemocultivos. Se revisaron 121 casos con un protocolo diseñado a tal efecto. La identificación y sensibilidad a 22 antibióticos se realizó con el sistema de microdilución automático MicroScan (Dade Behring, EEUU). Se analizaron parámetros epidemiológicos y patrones de resistencia antibiótica con el programa estadístico SPSS 11.0.

Resultados: Los 121 casos corresponden a 68 hombres y 53 mujeres, con una mediana de edad de 74 años (0-94). 54% del total fueron de adquisición intrahospitalaria. Los Servicios donde se presentaron los casos fueron 15% en UCI, 73% en servicios médicos y 12% en quirúrgicos. Los principales focos probables de origen fueron cardiovascular-22%- y respiratorio-21%-. 56% del total había tenido ingresos previos, 10% estaba institucionalizado. Al evaluar los factores de riesgo para desarrollar bacteriemia, del total de los 121 casos, el 9% recibió nutrición parenteral, 34% portaban sonda vesical, 66% tenían colocado un catéter, 30% presentaban lesión cutánea, 14% se sometió a cirugía, 36% a algún procedimiento médico, 14% recibió antibioterapia, 56% estaba inmunodeprimido, y 83% tenían enfermedad de base.

El 64% recibió tratamiento empírico correcto. Hubo un 22% de fallecimientos. Se aislaron 85 (72%) SAOS y 34 (28%) SAOR. Se observaron diferencias estadísticamente significativas al comparar SAOS-SAOR respecto a recibir nutrición parenteral o antibioterapia previas al aislamiento, así como respecto a la sensibilidad frente a clindamicina (82/42%), claritromicina (72/15%), ciprofloxacino (87/18%), eritromicina (57/12%) y gentamicina (88/57%), pero no frente a glucopéptidos. Un 79% de los SAOR fueron multirresistentes siendo el perfil más prevalente: gentamicina-ciprofloxacino-eritromicina-claritromicina-clindamicina (47%) seguido de ciprofloxacino-eritromicina-claritromicina (20%).

Conclusiones: Recibir nutrición parenteral y antibioterapia previa son los principales factores de riesgo asociados a resistencia a oxacilina en bacteriemias por *S. aureus*. En nuestro medio el aislamiento de SAOR en sangre es elevado y un alto porcentaje de ellos presenta multiresistencia.

263

SENSIBILIDAD A 14 ANTIMICROBIANOS DE 82 CEPAS DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* AISLADAS DE PACIENTES CON EXACERBACIÓN DE ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA (EPOC)

E. Cuchí¹, P. Almagro², C. García-Vidal², V. Romani², J. Lite¹ y J. Garau²

¹Servicios de Microbiología y ²Medicina Interna. Hospital Mútua de Terrassa. Terrassa (Barcelona).

Objetivos: Conocer la sensibilidad de cepas de *Haemophilus influenzae* aisladas de pacientes adultos con patología tributaria de ingreso hospitalario y utilización de diversos antibióticos.

Material y métodos: Se estudiaron 82 cepas de *H. influenzae* obtenidas de esputos de pacientes con EPOC que acudieron al hospital por reagudización de la misma. El aislamiento e identificación se realizaron por métodos convencionales.

La producción de beta lactamasa se detectó por el método de la cefalosporina cromogénica (NitrocefínTM). El estudio de sensibilidad a ampicilina, amoxicilina-ac. clavulánico, cefuroxima, cefotaxima, cotrimoxazol y azitromicina se realizó por microdilución en placa (Sensititre[®]); en el caso de ciprofloxacina, moxifloxacina, levofloxacina, imipenem, me-

ropenem y ertapenem se practicó mediante Etest® en agar HTM.

Resultados: Un 12,2% de cepas fueron productoras de beta lactamasa. El 100% de las cepas fueron sensibles a todos los antibióticos estudiados, excepto ampicilina (12,2% de resistencias), cotrimoxazol (24,4%), tetraciclinas (4,7%) y cloranfenicol (1,2%). La CIM₉₀ de cefuroxima fue 1 (intervalo < 0,5-2) y < 0,06 para cefotaxima (intervalo < 0,06-0,25). La CIM₉₀ de azitromicina fue 1 (intervalo < 0,5- 4). La CIM₉₀ de ciprofloxacina, fue 0,016 (intervalo < 0,002-0,125), 0,094 (intervalo < 0,002-0,94) para moxifloxacina y 0,023 (< 0,002- 0,25) para levofloxacina. La CIM₉₀ de imipenem fue 1 (intervalo 0,038-3) 0,094 (intervalo <0,002-0,47) para meropenem y 0,064 (intervalo 0,03- 0,47) para ertapenem.

Conclusiones: Incluso en pacientes expuestos por su enfermedad de base a repetidos ingresos hospitalarios y a diferentes tratamientos antibióticos, *H. influenzae* no presenta porcentajes de resistencia significativos a los antimicrobianos estudiados, excepto en el caso de cotrimoxazol. En nuestra serie, la CIM₉₀ de imipenem es diez veces más elevada que la del resto de carbapenémicos.

264

ACTIVIDAD COMPARATIVA DE DAPTOMICINA FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADO EN 3 HOSPITALES ESPAÑOLES: PROGRAMA SENTRY (2003-04)

J.R. Hernández¹, J.C. Alcalá¹, R. Cantón², J. Liñares³ y A. Pascual¹

¹Hospital Universitario Virgen de la Macarena, Sevilla.

²Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid. ³Hospital Universitario de Bellvitge, Barcelona.

Objetivos: SENTRY es un programa internacional y longitudinal de vigilancia de resistencia bacteriana a los antimicrobianos. El objetivo de este estudio es evaluar la actividad de 20 antimicrobianos frente a cepas de *S. aureus* aisladas en 3 centros españoles participantes en el Programa SENTRY durante los años 2003-2004.

Material y métodos: Se determinó mediante microdilución (normas CLSI) la actividad de daptomicina (DAP), amoxicilina/clavulánico (AMC), cefepime (FEP), ceftriaxona (CRO), cloranfenicol (CAF), ciprofloxacino (CIP), clindamicina (CLD), eritromicina (ERI), gatifloxacino (GAT), gentamicina (GN), imipenem (IMP), levofloxacino (LEV), linezolid (LNZ), oxacilina (OXA), quinupristin/dalfopristin (QD), rifampicina (RIF), teicoplanina (TEI), tetraciclina (TET), cotrimoxazol (SxT) y vancomicina (VC) frente a 317 aislamientos de *S. aureus* correspondientes a los 3 hospitales españoles participantes del programa SENTRY: Hospital Universitario de Bellvitge, Barcelona; Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid; y Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla.

Resultados: De los 317 aislamientos, 213 se aislaron de sangre, 85 de infecciones de partes blandas y el resto de diferentes muestras. Los antimicrobianos más activos (100% de sensibilidad en el total de las cepas) fueron DAP, LNZ, QD, TEI y VC. De estos, las CMI₉₀ más bajas fueron las de DAP y QD (0,5 mg/l). No se observaron diferencias significativas en sensibilidad al comparar los aislamientos de sangre frente a los de otros orígenes. El 18% de las cepas eran resistentes a metilina (SARM). Las principales diferencias de sensibilidad entre SARM y SASM para antimicrobianos diferentes a los betalactámicos fueron CIP (95% vs. 3,5%), GAT (96,5% vs. 3,5%), LEV (96,9% vs. 3,5%), ERI (88,1% vs. 19,3%) y CLD (99,2% vs. 84,2%).

Conclusiones: De los antimicrobianos evaluados, DAP, LNZ, QD, TEI y VC, fueron los más activos in vitro (100% de sensibilidad) frente a las cepas de *S. aureus* incluidas en el programa SENTRY, siendo DAP y QD las que ofrecieron los valores de CMI₉₀ más bajos.

265

ESTUDIO MULTICÉNTRICO DE LA RED ESPAÑOLA DE INVESTIGACIÓN EN PATOLOGÍA INFECCIOSA (REIPI) SOBRE INFECCIONES POR *ACINETOBACTER BAUMANNII*

S. Miguelañez¹, C. García-Estébanez¹, J. Oteo¹, J. Campos¹, S. Martí², J. Vila², M.A. Domínguez³, A. García-Curiel⁴, N. Larrosa⁵, A. Pascual⁶, V. Pintado⁷ y P. Coll⁸ por la Red Española de Investigación en Patología Infecciosa (REIPI)
¹Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid. ²Servicio de Microbiología, Hospital Clínic, Barcelona. ³Servicio de Microbiología, Hospital de Bellvitge, Barcelona. ⁴Servicio de Microbiología, Hospital Virgen del Rocío, Sevilla. ⁵Servicio de Microbiología, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona. ⁶Servicio de Microbiología, Hospital Virgen de la Macarena, Sevilla. ⁷Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Ramón y Cajal, Madrid. ⁸Servicio de Microbiología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona.

Objetivos: Estudio de las infecciones por *Acinetobacter baumannii* (AB) recogidas entre junio de 2003 y junio de 2004 por la REIPI, con especial atención a la resistencia a agentes antibacterianos y a la difusión clonal de las cepas resistentes a imipenem.

Material y métodos: Participaron 7 hospitales españoles de distintas zonas geográficas. Se recogieron los 15 primeros aislamientos por trimestre de muestras clínicas, un aislamiento por paciente. Se identificaron en cada laboratorio por métodos estándar. Se enviaron al Centro Nacional de Microbiología dónde se procedió al estudio de la sensibilidad por microdilución. En las cepas sensibles a antibióticos se confirmó la identificación mediante métodos moleculares. En tres de los hospitales participantes con distintos patrones de resistencia a imipenem se estudió la epidemiología molecular mediante la Rep-PCR y PFGE (enzima *ApaI*).

Resultados: Se estudiaron 354 infecciones por AB. La mayoría se produjeron en varones (61,9%), mayores de 65 años (52,3%), ingresados en UCIs (35,6%), y en infecciones respiratorias (31,1%). La resistencia a ampicilina, ciprofloxacino, cefotaxidima, gentamicina, tobramicina, amikacina, piperacilina/tazobactam, ampicilina/sulbactam e imipenem fue del 89,3%; 85,3%; 76,8%; 83,6%; 35%; 41%; 75,4%; 23,2% y 38,4%, respectivamente. La proporción de cepas resistentes a imipenem varió ampliamente entre hospitales (intervalo: 13,5%-85%). La resistencia a imipenem fue mayor en cepas procedentes de enfermos ingresados en UCIs (53,6%) que en otros servicios (40,2%) (p =0,002), así como en cepas procedentes de muestras respiratorias en comparación con el resto de cepas (p =0,05). La epidemiología molecular de las cepas de AB varió entre los tres hospitales estudiados, a mayor resistencia a imipenem se observó una mayor homología genética.

Conclusiones: 1) La prevalencia de resistencia a imipenem entre hospitales y entre distintos servicios hospitalarios fue muy variable. 2) La diversidad genética de las cepas de AB fue más elevada en las cepas sensibles que en las resistentes a IMP.

266

PERSISTENCIA DE *ENTEROBACTER AEROGENES* PRODUCTOR DE BLEE TEM-24 EN EL ÁREA 7 DE MADRID: ¿UNA SITUACIÓN ENDÉMICA?

D. López Wolf¹, E. Culebras López², M. Martínez, M. Colubi¹, R. Ruiz Luna¹ y J.J. Picazo²

¹Servicio de Medicina Interna IV y ²Servicio de Microbiología del Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Introducción: A finales de los años 90 fue descrita una cepa de *E. aerogenes* productor de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) de tipo TEM-24 en Francia que se diseminó

clonalmente por los países vecinos. En España fue aislada por primera vez en 1998 en el H. Ramón y Cajal de Madrid. Dos años después fue descrito en el H. Clínico San Carlos de Madrid un brote de diez cepas también idénticas a la francesa ("clon francés") aisladas entre diciembre del 2000 y enero del 2001.

Objetivos: Recoger aquellas cepas de *E. aerogenes* productoras de BLEE aisladas en el Área 7 de Madrid en los tres años sucesivos al brote (2002-2004) y determinar qué tipo de BLEE producen. En aquellas productoras de BLEE TEM-24, comprobar si son idénticas a la cepa que produjo el brote epidémico inicial en el H. Clínico ("clon francés") y valorar así si existe una persistencia endémica del mencionado clon. Analizar qué factores epidemiológicos podrían estar asociados a la adquisición de infecciones por *E. aerogenes* productor de BLEE en el medio hospitalario.

Materiales y métodos: Todas las cepas fueron sometidas a un estudio microbiológico (estudios de identificación y sensibilidad y caracterización bioquímica y molecular de la BLEE) y otro de carácter epidemiológico.

Resultados: Se obtuvo siete cepas de Enterobacter productoras de BLEE de las cuales cuatro tenían características bioquímicas y moleculares concordantes con las de la TEM-24. Una presentó un patrón de bandas diferente al del "clon francés" en el RAPD y la ERIC-PCR. En otra se observó una disminución de sensibilidad a imipenem y resistencia a cefepime. Los factores en posible relación con la adquisición de infecciones por *E. aerogenes* productor de BLEE fueron varios.

Conclusiones: La incidencia de *E. aerogenes* productor de BLEE en el Área 7 de Madrid ha disminuido notablemente en los años 2002 a 2004. El aislamiento de tres cepas indistinguibles del "clon francés" sugiere que nos encontramos ante una persistencia endémica del mismo en nuestro medio hospitalario. La presencia de una cepa TEM-24 con nuevas características moleculares podría indicar la aparición de un nuevo clon productor de esta β -lactamasa. La detección de una cepa con menor sensibilidad a imipenem y resistencia a cefepime alerta de la posible aparición inminente de nuevas resistencias entre las enterobacterias BLEE positivas en nuestro medio.

267

EPIDEMIOLOGÍA MOLECULAR DE AISLADOS DE *SALMONELLA ENTERICA* RESISTENTES A ACIDO NALIDÍXICO DE DISTINTOS SEROTIPOS APLICACIÓN DE VARIABLE NUMBER OF TANDEM REPEAT LOCI (VNTR)

I. Escribano, F. García, J.C. Rodríguez, P. López y G. Royo
S. Microbiología. Hospital General Universitario de Elche.
Universidad Miguel Hernández. Elche. Alicante.

Objetivo: Conocer la existencia de clusters entre aislados clínicos de diversos serotipos de *Salmonella spp.* resistentes a ácido nalidixico de nuestra área utilizando VNTR.

Material y métodos: Aislados clínicos: Se analizaron 63 aislados de *Salmonella enterica* resistentes a ácido nalidixico, sin relación epidemiológica conocida, de los siguientes serotipos y lisotipos: 23 S. Enteritidis lisotipos 1, 1b, 4, 5a, 6, 6a, 6b, 7, 35, NT, PNR; 18 S. Hadar lisotipos 1, 2, 11, 14, 15, 17, 32, PNR; 13 S. Virchow lisotipos 8,17, PNR; 9 S. Typhimurium lisotipos 104, 104b, 120, MU302, NT. VNTR: Se emplean 8 pares de cebadores que flanquean 8 "loci" altamente discriminatorios, propuestos por Lindstedt (1) para el serotipo Typhimurium. En resumen, se realiza una PCR con cada par de cebadores, uno de ellos marcado con un fluorocromo (TET, FAM o HEX). El análisis de fragmentos se realiza en un secuenciador automático (Perkin Elmer 9600), mezclando los amplificadores de tres cebadores marcados con diferente fluorocromo y un marcador de peso molecular. Los electroferogramas resultantes muestran patrones de bandas fácil-

mente interpretables, apareciendo un pico de cada color, de cuyo peso molecular puede inferirse el número de repeticiones de los fragmentos. Dos cepas son distintas si presentan diferencias en uno o más de los locus estudiados.

Resultados: En *S. Typhimurium* la combinación de los 8 cebadores descritos discrimina claramente todos los aislados incluso del mismo lisotipo, no detectándose la presencia de ningún cluster. Lo mismo se observa en *S. Virchow* y *S. Enteritidis*. En *S. Hadar* discrimina todos los aislados entre sí, excepto dos, que presentan los mismos fragmentos, pero estos pertenecen a lisotipos distintos.

Discusión: Aplicamos la técnica de VNTR para detectar clusters no conocidos en cuatro serotipos de *Salmonella* concluyendo que las cepas estudiadas presentan diferencias entre sí, por lo que no tienen relación epidemiológica entre ellas. Las únicas cepas con el mismo perfil genético presentaban distinto lisotipo, por lo que ambas técnicas epidemiológicas son complementarias entre sí. Nuestros datos indican que la resistencia a ácido nalidixico en nuestro medio no tiene origen clonal.

1. Lindstedt BA et al. DNA fingerprinting of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium with emphasis on phage type DT104 based on variable number of tandem repeat loci. *J. Clin. Microbiol* 2003; 41:1469-79.