

Posters
Antibacterianos

Poster AB-1

Eficacia de levofloxacino en monoterapia en pacientes con neumonía adquirida en la comunidad que precisan ingreso hospitalario

J.M. Querol-Ribelles, J.M. Querol-Borrás, J.L. Climent, E. Gómez, T. Labrador, A. Nieto e I. Martínez

Servicio de Medicina Interna, Hospital Lluís Alcanyís, Xàtiva, Valencia

Objetivos.- Evaluar la eficacia de levofloxacino en monoterapia en el tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC) que precisa ingreso hospitalario.

Metodología.- Estudio prospectivo de 15 meses de duración (Octubre de 2001 a Diciembre de 2002), en el que se incluyen todos los pacientes con NAC atendidos en el Servicio de Urgencias (Hospital de 280 camas que atiende a una población de 180.000 habitantes) y que fueron ingresados según un protocolo institucional para el manejo de las NAC, basado en el PSI (*Prognostic Severity Index*). Levofloxacino (Tavanic[®], Aventis) se administró inicialmente por vía intravenosa, a una dosis de 500 mg cada 12 horas las primeras 24 horas, seguido de una dosis diaria bien iv u oral, hasta completar 10 días de tratamiento. La eficacia se evaluó mediante el análisis de la mortalidad en los 30 primeros días, aparición de complicaciones durante el ingreso hospitalario y la tasa de reingresos.

Resultados.- Se incluyen 153 pacientes, 100 (65,4%) varones, con una media de edad de 68 años. La media del PSI en puntos fue de $94,8 \pm 26,6$. Quince (9,8%) pacientes pertenecían a la clase I, 18 (11,8%) a clase II, 42 (27,5%) a clase III, 64 (41,8%) a clase IV y 14 (9,2%) a la clase V. Fallecieron 4 (2,6%) pacientes y 27 (16,6) presentaron complicaciones durante la evolución. No hubo ningún reingreso. La estancia media fue $6,4 \pm 3,4$ días, con una mediana de 6 días. La duración media del tratamiento con levofloxacino intravenoso fue de $4,1 \pm 2,1$ días, con una moda de 3 días. El tiempo de instauración del antibiótico desde el registro en Admisión de Urgencias fue de $369,70 \pm 311,11$ minutos. Se realizó cambio de antibiótico por fracaso en dos pacientes, uno de los cuales falleció. Sólo fue necesario cambiar levofloxacino por otro antibiotico por intolerancia digestiva en un paciente cuando se realizó el paso a vía oral.

Conclusiones.- 1.- Levofloxacino en monoterapia es eficaz, con bajas tasas de mortalidad, en el tratamiento de la NAC que precisa ingreso hospitalario. 2.- La tolerancia de levofloxacino tanto por vía oral como intravenosa fue excelente. 3.- La dosis única diaria y la posibilidad de terapia secuencial, así como su espectro antibacteriano y farmacocinética, hacen de levofloxacino un antibiótico de primera elección en el tratamiento de la NAC.

Poster AB-2

Efecto sinérgico de una lisozima y una amidasa en el tratamiento de la sepsis

R. López, I. Jado, E. García, J. Casal, J.L. García, A. Fenoll y P. García

*Departamento de Bacteriología, Instituto Nacional de Salud Carlos III
y Departamento de Microbiología Molecular, Centro de Investigaciones Biológicas, CSIC, Madrid*

Introducción: *Streptococcus pneumoniae* es un importante patógeno humano y aproximadamente el 40% de las cepas aisladas en España y en EE.UU. presentan resistencias frente a los antibióticos β -lactámicos (1). Las enzimas líticas codificadas por fagos han sido recientemente usadas como una herramienta útil para eliminar algunas infecciones producidas por neumococo, *S. pyogenes* y *Bacillus anthracis*, lo que ha llevado a usar el término enzibióticos para designar a estas proteínas (2).

Materiales y métodos: En todos los ensayos se usó la cepa *S. pneumoniae* 541, serotipo 6B (1). Los genes *cpl1* y *pal*, que codifican una lisozima (Cpl1) y una amidasa (Pal), respectivamente, se aislaron a partir de los fagos Cp-1 y Dp-1. Estos genes fueron clonados y expresados en plásmidos adaptados a *Escherichia coli* (3). Los ensayos biológicos se realizaron usando ratones BALB/c de 8 a 12 semanas de edad y 19 a 22 g de peso (1).

Resultados y discusión: En este trabajo se investiga por vez primera la protección por enzimas líticas Cpl1 y Pal en un modelo de sepsis experimental murina producida por *S. pneumoniae*. Se ha utilizado una cepa de serotipo 6B, el más común en pediatría, que, además, presenta resistencia frente a penicilina y otros antibióticos. Una sola dosis (200 μ g) de la lisozima Cpl1 o de la amidasa Pal fue suficiente para curar a los ratones que habían sido infectados por vía i.p., 10 min antes, con 10^8 CFU de *S. pneumoniae* 541. Los ratones tratados solo con neumococo murieron 72 h más tarde y la bacteriemia alcanzó en sangre valores $>10^7$ CFU/ml. Por el contrario, en los tratados con Cpl1 o Pal estos valores fueron siempre $<10^6$ CFU/ml y las bacterias desaparecieron después de 7 días. El uso combinado de Pal y Cpl1 produjo un destacado efecto sinérgico en la actividad de estas enzimas ya que usando 2 μ g de cada una de las enzimas protegían a los animales mientras que 4 μ g de cada una de las enzimas por separado no evitaban la muerte de los ratones infectados. Por otra parte, ensayos inmunológicos revelaron la presencia en sangre de anticuerpos antilisinasa pero inyecciones posteriores de las enzimas líticas no produjeron ningún efecto indeseable en los animales. Este nuevo planteamiento representa un importante avance sobre estudios previos en los que se demostraba experimentalmente que la administración de Pal producía una reducción del estado portador de neumococo en la nasofaringe de ratones (2). Además, los resultados que aquí se discuten son una nueva contribución con el fin de estimular los estudios farmacodinámicos tendentes a buscar nuevas (o complementarias) alternativas para combatir las infecciones producidas por neumococo.

Bibliografía

1. Casal, J., Aguilar, L., Jado, I., Yuste, J., Giménez, M.J., Prieto, J., Fenoll, A. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 1340-1344.
2. Loeffler, J.M., Nelson, D., Fischetti, V.A. Science 2001; 294: 2170-2172.
3. Sheehan, M.M., García, J.L., López, R., García, P. Mol. Microbiol 1997; 25: 717-725.

Poster AB-3

Resistencia antimicrobiana de los principales patógenos aislados en el Laboratorio de Microbiología Clínica en pacientes de sida

M. Rodríguez Pérez, S. Palma Monroy y M. Garcés

Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí, La Habana, Cuba

Introducción: Las enfermedades infecciosas continúan siendo un problema de salud en el mundo, que se ha incrementado con el surgimiento de cepas resistentes, trayendo consigo fallas en el tratamiento de elección. Los antimicrobianos son los medicamentos más utilizados en la actualidad en la práctica médica y constituyen una de las medidas más importantes en el control de las enfermedades infecciosas. Al mismo tiempo el uso indiscriminado de estos medicamentos ha dado como resultado la aparición de microorganismos patógenos resistentes y esto a su vez ha sido el punto de partida de la necesidad cada vez mayor de contar con nuevos fármacos. En los pacientes de sida los agentes infecciosos que coexisten pacíficamente con un huésped inmunocompetente causan estragos debido a que carecen de un sistema inmunitario completo. Además estos microorganismos desarrollan una mayor resistencia frente a los antimicrobianos debido a la profilaxis que se aplica a estos pacientes para las coinfecciones.

Objetivo: Por tal motivo decidimos estudiar el comportamiento de la resistencia antimicrobiana de las cepas más frecuentemente aisladas en pacientes de sida que acuden a nuestro centro.

Materiales y Métodos: En la realización del presente trabajo se diseñó un estudio descriptivo. Para la recolección de los datos se utilizaron los libros de registro del Laboratorio de Microbiología Clínica del Instituto Nacional de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Se tomaron, en orden de frecuencia, todos los microorganismos patógenos aislados de muestras microbiológicas en pacientes de sida y los resultados de las pruebas de sensibilidad, según método de Kirby-Bauer y basado en las normas de la NCCLS del 2000, de los géneros que tuvieron cifras significativas aisladas en el período de tiempo comprendido entre enero y diciembre del año 2001.

Todos los datos fueron procesados manualmente y los resultados se muestran en tablas y gráficos.

Resultados: Los microorganismos más aislados por orden de frecuencia fueron el *Staphylococcus aureus*, la *Escherichia coli* y los *Streptococcus β haemoliticus*.

Se encontró mayor resistencia de *Staphylococcus aureus* frente a tetraciclina, eritromicina y en menor medida a trimetoprim-sulfametoxazol. La resistencia de *Escherichia coli* fue mayor frente a ampicilina, tetraciclina y trimetoprim-sulfametoxazol. Los *Streptococcus β haemoliticus* mostraron mayor resistencia frente a trimetoprim-sulfametoxazol, tetraciclina y eritromicina.

Conclusiones: Los resultados encontrados en nuestro estudio, en cuanto a la resistencia antimicrobiana de los principales patógenos aislados en los pacientes VIH/sida, coinciden con la literatura revisada a excepción de meticilina que solo un 5,3% de las cepas fueron resistentes. Pensamos que esto se deba al poco uso de este antibiótico en la terapéutica de rutina a causa del conocimiento de los médicos de sus altos índices de resistencia.

El alto porcentaje de resistencia de los tres microorganismos frente a trimetoprim-sulfametoxazol en nuestro laboratorio se debe a que en la población estudiada este antibiótico tiene un mayor uso pues es el de elección en las terapéuticas profilácticas de coinfecciones frecuentes en el curso de la infección por VIH/sida.

Eficacia clínica del moxifloxacino en el tratamiento de abscesos odontológicos

J. Limeres¹, M. Tomás², I. Tomás¹, E. Vázquez¹, M. Outumuro¹ y P. Diz¹

¹Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Santiago de Compostela;

²Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo, A Coruña

Introducción

Los abscesos odontológicos (AO) constituyen una de las patologías infecciosas más importantes del territorio orofacial por su morbilidad y capacidad de diseminación. En el tratamiento antibiótico de los AO, las penicilinas han sido el fármaco de primera elección; sin embargo, debido al desarrollo de resistencias frente a los antimicrobianos, y al colectivo de pacientes alérgicos a los beta-lactámicos, en los últimos años se han propuesto antibióticos alternativos: clindamicina, azitromicina, etc. para el tratamiento de este tipo de patologías.

El objetivo de este estudio fue analizar la eficacia clínica del moxifloxacino (MXF), en el tratamiento de abscesos dentales, en relación a la combinación amoxicilina-ácido clavulánico (AMC).

Pacientes y métodos

El grupo de estudio lo conformaron 40 pacientes (16 varones, 24 mujeres) que solicitaron atención odontológica por presentar AO. A todos los pacientes se les realizó una historia médica y una exploración odontológica. Para el tratamiento del AO los enfermos se distribuyeron en dos grupos: grupo A (n = 20) con pauta de tratamiento MFX 400 mg/24 h/7 días, y grupo B (n = 20) con pauta AMC 500/125 mg/8 h/7 días. Tras el periodo de tratamiento prescrito los pacientes fueron re-examinados para analizar la evolución clínica del AO.

Resultados

En casi la mitad de los pacientes (47,5%) se trataba de recidivas de AO previos, originados por caries (47,5%) o enfermedad periodontal (22%), con un período de evolución superior a 72h (60%). En el grupo A, se consiguió la eliminación del dolor y del enrojecimiento de la mucosa oral en el 94% y 70% de los casos respectivamente, y en el 84% de los enfermos la desaparición o mejoría de la tumefacción gingival. En el grupo B la eliminación del dolor se consiguió en el 85% de los casos, la mejoría del enrojecimiento mucoso y de la tumefacción gingival en el 62,5% y 87,5% respectivamente. Todos los casos de celulitis faciales evolucionaron favorablemente con ambos fármacos. La presencia de reacciones indeseables sólo se detectó en un caso a MFX sin que fuese necesario suspender la medicación.

Conclusiones

El MXF ha demostrado una elevada actividad *in vitro* frente a los patógenos implicados en los AO. Los resultados de este estudio parecen corroborar clínicamente estos hallazgos de laboratorio, sugiriendo que el MFX podría constituir una alternativa razonable en el tratamiento de AO.

Poster AB-5

Aislamiento de *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina en el nicho ecológico fecal del Área de Salud II y V de Zaragoza

S. Escobar¹, L. Torres¹, C. Torres², M.J. Reville¹, J. Castillo³, A. Rezusta¹, A. Hurtado¹ y P. Gavín¹

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza;

²Área de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de La Rioja;

³Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza

Las distintas especies de *Enterococcus* spp. pueden encontrarse como flora saprófita humana o causando una gran variedad de infecciones. Con el aumento de edad de la población, el deterioro de salud y el uso abusivo de antimicrobianos, están apareciendo infecciones enterocócicas resistentes a los tratamientos habituales que hay que controlar y establecer medidas para evitar su diseminación. El incremento de la incidencia de *Enterococcus* spp. resistentes a vancomicina (VRE) plantea los siguientes problemas: a) dificultad de tratamiento adecuado para las infecciones por VRE y b) posibilidad de transferencia de los genes de resistencia a otros grampositivos.

Objetivos: 1) Realizar un estudio prospectivo de la prevalencia de VRE en el nicho ecológico fecal para conocer el grado de colonización/infección en la población del área II y V de Zaragoza (ambulantes y hospitalizados); 2) Estudiar las cepas más frecuentes y tomar las medidas de control; 3) Establecer los métodos de cribado necesarios para la detección precoz de las cepas resistentes.

Método: Se estudiaron 532 muestras de heces de las que se obtuvo un total de 130 aislamientos de *Enterococcus* spp. (febrero-mayo del 2002). El medio de cribado utilizado fue agar Bilis-Esculina con vancomicina (6 µg/ml) y aztreonam (75 µg/ml) (BEVA). Las especies se identificaron por pruebas bioquímicas y por biología molecular (PCR). La determinación de la susceptibilidad antimicrobiana se realizó mediante métodos de difusión en agar por disco-placa (NCCLS), *E-test* (ABBioDisk®) y microdilución en caldo por CMI (*Sensititre*®).

Resultados: De los 130 enterococos aislados en heces, 5 (3.85%) fueron resistentes a vancomicina y el resto (96.15%) sensibles. El porcentaje de colonización por cepas VRE fue de 0.94% (5 de 532 muestras fecales estudiadas). Excepto en un caso, las cepas resistentes pertenecían a pacientes ingresados en unidades críticas (UCI-coronarias, cardiología y oncología) que habían recibido tratamiento antibiótico de amplio espectro (imipenem, ceftazidima y vancomicina). Las cepas aisladas fueron 2 *E. gallinarum* (fenotipo Van C) y 3 *E. faecium* (2 fenotipos Van B y 1 VanA).

Conclusiones: Los aislamientos de VRE suelen darse en pacientes con factores de riesgo. El porcentaje de colonización por VRE fue bajo (0.9%) y se encuentra dentro de lo publicado (<5%). El medio BEVA ofrece buenos resultados y su elaboración no es compleja. Es de utilidad que cada Laboratorio de Microbiología disponga de medios necesarios para la detección de estas cepas y que los resultados se emitan precozmente con la finalidad de evitar su diseminación, fundamentalmente nosocomial.

Poster AB-6

Epidemiología molecular de la resistencia a macrólidos y antibióticos relacionados en *Streptococcus pneumoniae*

M. Canales¹, P. Goñi¹, J. Ruiz², L. Millán¹, P. Cerdá¹, S. Capilla¹, M. Oca¹, J. Vila², M.C. Rubio¹ y R. Gómez-Lus¹

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Zaragoza;

²Departamento de Microbiología, Hospital Clínic i Provincial de Barcelona

El objetivo principal de este trabajo fue la detección y caracterización en *S.pneumoniae* de los fenotipos y los genes de resistencia a macrólidos y telitromicina (TI) así como la asociación de determinantes de resistencia a antibióticos MLS_{B/C} [*erm(B)* y *mef*] con los determinantes *tet(M)* (resistencia a tetraciclina y minociclina), *cat_{PC194}* (resistencia a cloranfenicol), *aph(3')-III* (resistencia a kanamicina), *aadE* (resistencia a estreptomina). El estudio de la diseminación de los genes de resistencia ha requerido el análisis epidemiológico de las cepas por tipificación molecular.

Se aislaron 137 cepas de *S.pneumoniae* y 2 estreptococos del grupo viridans (EGV) (124 resistentes a eritromicina y 15 sensibles a este antibiótico) de muestras respiratorias en el Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa" de Zaragoza, entre 1999-2002. Se estudió la susceptibilidad frente a diferentes antimicrobianos; penicilina (Pen), eritromicina (Em), azitromicina (Az), clindamicina (Cd), micamicina (Mom), quinupristin /dalfopristin(Q/D), tetraciclina (Tc), minociclina (Mino), cloranfenicol(Cm), kanamicina (Km), estreptomina (Sm), gentamicina (Gm) y telitromicina, utilizando el método de difusión en agar con disco y la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) siguiendo las recomendaciones del NCCLS, 2000. La determinación de los fenotipos de resistencia se llevó a cabo por medio de la técnica de triple difusión en agar. La detección de los genes de resistencia [*erm(B)*, *aph(3')-III*, *aadE*, *tet(M)*, *cat_{PC194}* y el gen *int(Tn)*] se hizo mediante amplificación por PCR con iniciadores específicos para cada gen. Se diferenciaron las subclases del gen *mef* [*mef(A)* y *mef(E)*] por digestión con *BamH-I*. El estudio epidemiológico se realizó por la técnica BOX PCR.

De las cepas estudiadas, el 65.47% presentaban el fenotipo MLS_{B/C}, 18.71% eran fenotipo M, el 5.04% MLS_{Bi} y un 10.79% sensibles a eritromicina de las cuales un 4% presentaban resistencia a otros antibióticos (Tc, Mino, Cm, Sm). De las cepas que presentaban el fenotipo M el 100% fueron clasificadas como *mef(E)*. El gen *erm(B)* fue encontrado en todas las cepas con fenotipo MLS_{B/C} y MLS_{Bi}. En el 2.88% de las cepas MLS_{Bi} se encontró el gen *erm(B)* junto con el gen *mef* y en un 2.1% sólo el gen *ermB*. En ninguna de las cepas aisladas detectamos la presencia de los genes, *erm(A)*, *erm(C)*, *erm(TR)*. La resistencia a penicilina fue de un 87.77%, asociada al fenotipo MLS_{B/C} en un 53.95%, la resistencia a tetraciclina fue de un 63.30%, con un rango de CIM de 8-64 µg/ml, asociada a los fenotipos MLS_{B/C} y MLS_{Bi} en un 54,67% y 3,59% respectivamente. El gen *tet(M)* fue encontrado en 62 cepas que tenían resistencia a Tc. En cuanto al cloranfenicol la resistencia fue de un 38,12% asociada al fenotipo MLS_{B/C} en un 34,53%; el *cat_{PC194}* fue encontrado en 51 cepas.

Dos cepas, una de EGV y una de *S.pneumoniae* tenían resistencia de alto nivel a kanamicina con un rango de CIM de 512- >1024 µg/ml, el gen *aph(3')-III* fue detectado en una de ellas. Los genes *tet(M)* y *cat_{PC194}* se encontraron asociados al gen de resistencia *erm(B)*. Todos los aislamientos con los genes *erm(B)*, *aph(3')-III*, *tet(M)*, *cat_{PC194}* amplificaron con el gen de la integrasa *int(Tn)*. El *aadE* se encontró en 10 de las 27 cepas con resistencia a Sm. No encontramos ningún aislamiento con resistencia a Gm.

Una cepa de EGV era resistente a TI (4 µg/ml), 12 cepas tenían resistencia a Q/D (2-16 µg/ml).

La tipificación por medio de BOX PCR dio como resultado una gran heterogeneidad. Esta diversidad genética nos permite descartar la diseminación clonal por lo que podemos pensar que la diseminación de los genes de resistencia ha tenido lugar por conjugación o transformación, lo que se ha logrado demostrar en algunas de nuestras cepas.

Poster AB-7

Actividad *in vitro* de antituberculosos de segunda línea frente a *Mycobacterium tuberculosis*

P. Ruiz, J. Gutiérrez, F.J. Zerolo y M. Casal

Centro de Referencia de Micobacterias, Facultad de Medicina, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba

Objetivo: Estudiar la actividad de antimicobacterianos de segunda línea frente a *M. tuberculosis*, sobre todo en aquellos casos en que se presenta cualquier resistencia a los fármacos de primera línea.

Material y método: Se han utilizado 94 cepas de *M. tuberculosis* procedentes de enfermos con procesos tuberculosos. En todos ellos se realizó en primer lugar un estudio frente a los fármacos de primera línea estreptomycin (SM), rifampicina (RF), etambutol (EB) e isoniazida (INH). En el caso de aparecer alguna resistencia a alguno de estos fármacos ó en el caso de que fuera solicitado, se estudió la actividad del *M. tuberculosis* aislado frente a capreomicina (8 µg/ml), amikacina (8 µg/ml), ofloxacina (2 µg/ml), ciprofloxacina (2 µg/ml), rifabutina (0,5 µg/ml), rifapentina (5 µg/ml), ethio-namida (1,5 µg/ml) y PAS (50 µg/ml).

El método para realizar el estudio fue el sistema automatizado y no radiométrico ESP II.

Resultados: Las cepas que fueron sensibles a primera línea y a las que también se realizó la segunda línea no mostraron ninguna resistencia en este segundo estudio. Cuando apareció alguna resistencia a los fármacos de primera línea los resultados fueron: De las 15 cepas resistentes a RF, 2 lo fueron también a rifabutina, 3 a rifapentina, 6 a rifapentina más rifabutina, 2 fueron sensibles y 2 más mostraron otras resistencias. De las 14 cepas resistentes a INH, 12 fueron sensibles, 1 resistente a capreomicina más amikacina y otra a capreomicina más ofloxacina. De las 25 cepas resistentes a RF más INH, 1 lo fue también a rifapentina, 3 a rifabutina, 9 a rifabutina más rifapentina, 9 fueron sensibles y el resto lo fueron a otros. De las dos cepas resistentes a Sm más INH, 1 lo fue también a rifabutina más rifapentina y otra fue sensible. La única cepa resistente a EB más INH fue sensible a segunda línea. Tres cepas fueron resistentes a RF más EB más INH; 2 de ellas lo fueron también a rifabutina y otra lo fue a rifabutina más rifapentina. Seis cepas resistentes a SM más RF más INH y de ellas 3 lo fueron también a rifabutina más rifapentina.

Conclusiones: En los casos en que aparezca una resistencia a fármacos de primera línea, se aconseja ampliar el antibiograma, no sólo para obtener otras alternativas terapéuticas sino para detectar las resistencias a estos fármacos de segunda línea.

Poster AB-8

Actividad *in vitro* de telitromicina frente a 111 estreptococos del grupo *viridans* en relación con el fenotipo de resistencia a macrólidos

C. Rodríguez-Avial, I. Rodríguez-Avial y J.J. Picazo

Servicio de Microbiología, Hospital Clínico San Carlos, Madrid

Introducción: Telitromicina es el primer representante de los ketólidos, una nueva generación de macrólidos. En general, presentan mayor actividad *in vitro* que éstos frente a grampositivos, incluidas diferentes especies del género *Streptococcus* resistentes a eritromicina. Los estreptococos del grupo *viridans* (SGV) son una causa común de endocarditis y de sepsis en pacientes inmunodeprimidos, y muestran una creciente resistencia a los antimicrobianos normalmente utilizados, incluidos los macrólidos.

Objetivo: El objetivo del nuestro estudio fue determinar la actividad *in vitro* de telitromicina frente a diferentes especies de SGV y valorar si los fenotipos de resistencia a eritromicina afectan, y en que medida, las CMI₅₀ de este ketólido.

Métodos: Determinamos la sensibilidad a eritromicina, clindamicina y telitromicina por el método de dilución en agar, siguiendo las recomendaciones del NCCLS, de 111 SGV aislados de hemocultivos. La clasificación de los fenotipos de resistencia a eritromicina se realizó mediante el método de doble difusión con discos de eritromicina y clindamicina según Seppälä y cols. La identificación de los SGV se realizó mediante el sistema rapid ID32 Strep (*BioMerieux*) y posteriormente se incluyeron en los grupo-especies propuestos por Coykendall.

Resultados: Encontramos en esta población, un 42% de cepas resistentes a eritromicina con una CMI₅₀ de 0,12 µg/ml y una CMI₉₀ de 256 µg/ml. La resistencia a clindamicina fue del 24% con una CMI₅₀ de 0,06 µg/ml y una CMI₉₀ de 128 µg/ml. Dentro de las cepas resistentes a eritromicina el 57% presentaron fenotipo MLS_B constitutivo (27 cepas) y el 43% restante fenotipo M (20 cepas). Telitromicina mostró una excelente actividad frente al conjunto de las cepas con una CMI₅₀ ≤0,015 µg/ml y una CMI₉₀ de 0,25 µg/ml. Cuando comparamos la actividad de telitromicina frente a las cepas sensibles y resistentes a eritromicina la CMI₅₀ varió de ≤0,015 a 0,12 µg/ml y la CMI₉₀ de ≤0,015 a 1 µg/ml respectivamente. Las cepas MLS_B presentaron una CMI₅₀ de 0,12 y una CMI₉₀ de 16 µg/ml y estos valores para las cepas con fenotipo M fueron 0,12 y 0,25 µg/ml respectivamente. Entre nuestros SGV, tres cepas de *S. bovis* presentaron una CMI comprendida entre 16 y 128 µg/ml. En la distribución por especies observamos que los *S. bovis* presentaron la CMI₅₀ y la CMI₉₀ más altas con 0,25 y 128 µg/ml respectivamente, mientras que *S. salivarius* presenta las más bajas con ≤0,015 y 0,06 µg/ml.

Conclusiones: Encontramos un alto porcentaje de resistencia a eritromicina, predominando el fenotipo MLS_B. Telitromicina mostró una excelente actividad inhibiendo a todas las cepas, salvo 9, con una CMI ≤0,25 µg/ml. Hay una disminución estadísticamente significativa de la actividad de telitromicina sobre las cepas resistentes a eritromicina (p <0.001) y sobre las cepas con fenotipo MLS_B (p <0.005) frente al M. Todas las cepas con CMI ≥0,5 µg/ml fueron resistentes a eritromicina con fenotipo MLS_B. Cuando realizamos la distribución de las CMs por grupos de especies, encontramos que *S. bovis* presentó los valores más altos de CMI mientras que *S. salivarius* tuvo los más bajos.

Poster AB-9

Efecto de dos inhibidores de los sistemas de bombeo sobre las CMI de quinolonas en aislados de *Salmonella no typhi* resistentes al ácido nalidíxico

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

Servicio de Microbiología Clínica, Hospital Clínico San Carlos, Madrid

Introducción: Desde el año 1993 estamos haciendo un seguimiento de la resistencia al ácido nalidixico en los aislados clínicos de *Salmonella* spp., por ser considerado como marcador de resistencia a las fluoroquinolonas. La resistencia a esta quinolona ha aumentado en nuestro hospital de 1,6% en 1993 a 36,2% en 2001. Algunos autores han observado que en *Salmonella enterica* la resistencia a quinolonas no se relaciona bien con la presencia de mutaciones en los genes *gyrA* y *parC*. Otro mecanismo de resistencia a quinolonas es el bombeo del antimicrobiano al exterior celular, el cual ha sido descrito en gran variedad de microorganismos incluyendo *S. enterica* serotipo *Typhimurium*.

Objetivo: El objetivo del presente estudio fue determinar si el mecanismo de bombeo podría jugar un papel en la resistencia al ácido nalidíxico, así como en la actividad de ciprofloxacino y norfloxacino en aislados clínicos de *Salmonella no typhi* resistentes al ácido nalidíxico.

Métodos: El estudio incluye 61 aislados de *Salmonella no typhi* resistentes al ácido nalidíxico (CMI ≥ 256 $\mu\text{g/ml}$) que presentaban sensibilidad disminuida a ciprofloxacino (CMI $\geq 0,125$ $\mu\text{g/ml}$) y norfloxacino (CMI $\geq 0,5$ $\mu\text{g/ml}$). Determinamos las CMI de ácido nalidíxico, ciprofloxacino y norfloxacino en presencia y ausencia de dos inhibidores del bombeo: reserpina (20 mg/l) y carbonyl cyanide m-chlorophenyldrazona (CCCP 100 μm) por el método de dilución en agar según las normas del NCCLS. *E. coli* ATCC 25922 y *P. aeruginosa* ATCC 27853 se incluyeron en el estudio como cepas control. Consideramos que existía bombeo del antimicrobiano cuando la CMI en presencia del inhibidor fue al menos 2 diluciones menor que la CMI en ausencia del inhibidor.

Resultados: El rango de CMI de las 61 cepas estudiadas para ácido nalidíxico, norfloxacino y ciprofloxacino fue de 256 a ≥ 1024 $\mu\text{g/ml}$, 0,5 a 2 $\mu\text{g/ml}$ y 0,12 a 0,5 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente. Cuando realizamos las CMI en presencia de reserpina observamos que en el caso del ácido nalidíxico 39 cepas presentaron una disminución significativa de la CMI, 13 cepas en el caso de norfloxacino y para ciprofloxacino 27 cepas presentaron esta disminución de la CMI. Cuando las CMI se realizaron en presencia de CCCP el efecto de inhibidor no fue aparente en ninguno de los casos.

Conclusiones: Los resultados utilizando reserpina sugieren la presencia de un mecanismo de bombeo para las quinolonas en nuestros aislados de *Salmonella no typhi*, que puede ser inhibido por esta droga.

El mayor efecto se detectó para el ácido nalidíxico.

Las CMI de norfloxacino y ciprofloxacino fueron también afectadas pero en menor grado que las del ácido nalidixico.

Con CCCP no detectamos disminución en las CMI de ninguno de los antibióticos estudiados.

Poster AB-10

Patrón de sensibilidad antimicrobiana de *Pseudomonas aeruginosa* procedentes de pacientes con heridas infectadas

A. Perkins, D. Domingo, M. Serrano, E. García-Peñuela, T. Alarcón, C. de las Cuevas y M. López-Brea

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid

Objetivo: el objetivo de este estudio fue analizar el patrón de sensibilidad de cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, obtenidas del cultivo de exudados de herida, de pacientes tanto ingresados como ambulantes de un hospital universitario de Madrid durante un periodo de 3 años (2000-2002).

Materiales y métodos: se cultivaron 2856 muestras obtenidas de heridas que se sembraron en medios sólidos (agar sangre y agar chocolate) y líquidos de enriquecimiento (fundamentalmente tioglicato). La identificación se realizó mediante el sistema automático *MicroScan* (Dade Behring). La sensibilidad se llevó a cabo mediante el método de microdilución en caldo con los paneles de *MicroScan* y se aplicaron los puntos de corte de acuerdo con las normas de la NCCLS. Los antibióticos estudiados fueron: amikacina (AMI), gentamicina (GEN), tobramicina (TOB), piperacilina (PIP), piperacilina/tazobactam (PTZ), ciprofloxacino (CIP), cefepime (CFE), ceftazidima (CFT) e imipenem (IMI).

Resultados: se obtuvieron un total de 2181 muestras (76,3% del total) con cultivo positivo, de las cuales 280 aislamientos (12,8% de los cultivos positivos) correspondieron a *P. aeruginosa*, obteniéndose el siguiente patrón de resistencia:

	AMI	GEN	TOB	PIP	PIP/TAZ	CIP	CFE	CFT	IMI
R (%) total	25 (8,9)	53 (18,9)	13 (4,6)	24 (8,5)	20 (7,1)	69 (24,6)	24 (8,5)	19 (6,7)	23 (8,2)
R (%)									
Ingresados	15 (11,2)	20 (15)	7 (5,2)	20 (15)	17 (12,7)	22 (16,5)	18 (13,5)	18 (13,5)	19 (14,2)
Ambulantes	10 (6,8)	33 (22,4)	6 (4,1)	4 (2,7)	7 (4,76)	47 (31,9)	6 (4,1)	1 (0,68)	4 (2,7)

Conclusiones: 1) *P. aeruginosa* es un patógeno frecuentemente aislado en exudados de heridas (12,8% de las muestras con cultivo positivo). 2) Los antimicrobianos con menores porcentajes de resistencia fueron tobramicina, piperacilina-tazobactam y ceftazidima. 3) Las cepas aisladas de pacientes ingresados mostraron mayores porcentajes de resistencia excepto a gentamicina y ciprofloxacino ($p < 0.05$).

Poster AB-11

Importancia de las bombas de flujo en la resistencia a quinolonas de aislados clínicos de *Salmonella* spp.

I. Escribano, J.C. Rodríguez y G. Royo

Servicio de Microbiología, Hospital General Universitario de Elche, Universidad Miguel Hernández, Elche (Alicante)

Objetivo: Estudiar de la implicación de las bombas de flujo en la disminución de sensibilidad a quinolonas en aislados clínicos de *Salmonella* spp. resistentes a ácido nalidíxico.

Material y métodos

Aislados clínicos: Sesenta y ocho aislados de *Salmonella enterica*, sin relación epidemiológica conocida, 61 resistentes al ácido nalidíxico (21 *S. enteritidis*, 18 *S. hadar*, 13 *S. virchow*, 7 *S. typhimurium*, 1 *S. brandenburg* y 1 *S. monofasica*) y 7 aislados sensibles al ácido nalidíxico utilizados como controles.

Actividad de los inhibidores de las bombas de flujo: Se calculó la CMI de los fármacos estudiados en presencia y ausencia de reserpina (Sigma) a 25 mg/l y de MC 207.110 (Phe-Arg- β -naphthylamide, Sigma) a 20 mg/l.

Sensibilidad antibiótica: Se determinó la actividad de ácido nalidíxico, ciprofloxacino, ofloxacino y sparfloxacino mediante el método de dilución en agar Mueller-Hinton, según las normas establecidas por la NCCLS.

Detección de mutaciones del gyrA: La detección de mutaciones en los codones 81, 83 y 87 de QRDR del gen *gyrA* se realizó mediante AS-PCR-RFLP. Esta técnica es una reacción de amplificación con tres primers: STGYRA1 (5'-TGTCGAGATGGCCTGAAGC-3'), AS-81 (5'-GGTAAATACCATCCCCACG-3') STGYRA-*Hinf*I/87: 5'-ATGTAACG-CAGCGAGAATGGCTGCGCCATACGAACGATGGAG-3'

Los amplificadores se digieren con *Hinf*I y ambos, amplificadores y productos digeridos, se visualizan en agarosa 3%.

Resultados: La implicación de las bombas de flujo inhibidas por MC 207.110 es variable en función de cada antibiótico. Estas bombas eliminan ácido nalidíxico en el 97% de las cepas y sparfloxacino en el 87%. Son menos activas frente a ofloxacino (41% de las cepas) y a ciprofloxacino (6% de las cepas). Las bombas de flujo inhibidas por la reserpina muestran poca influencia en la actividad de las quinolonas, ya que solo presentan actividad frente al 7% de los aislados cuando se ensaya junto a ácido nalidíxico.

Al clasificar los resultados en función del serotipo observamos que las cepas resistentes a ácido nalidíxico y con mutaciones en el *gyrA*, independientemente del serotipo, presentan activadas las bombas inhibidas por MC 207110 que actúan sobre ácido nalidíxico, excepto algunas cepas de *S. hadar*. Las cepas resistentes a ácido nalidíxico sin mutaciones en el *gyrA* presentan una mayor activación de este tipo de bombas.

Conclusiones: La influencia de las bombas del flujo en la disminución de la sensibilidad a las fluoroquinolonas es un hecho complejo en el que es probable que estén implicados varios sistemas de expulsión activa que muestran distinta activación en función de la estructura química de los compuestos. Esto plantea muchos interrogantes a la hora de conocer las características de estos procesos y valorar la posibilidad de utilizar inhibidores de estos sistemas como adyuvantes para aumentar la actividad de los antibióticos.

Poster AB-12

Identificación de los serotipos y sensibilidad a los antibióticos de *Streptococcus pneumoniae* aislados en población pediátrica de la Comunidad Valenciana

E. Cantón, M. Montaner, N. Diosdado, J. Román, C. Pérez-Bellés, R. Moreno y M. Gobernado

Hospital Universitario La Fe, Valencia; Hospital General de Castellón

Introducción: *Streptococcus pneumoniae* sigue siendo la principal causa de neumonía adquirida en la comunidad. También es una de las principales causas de las infecciones respiratorias del tracto superior, otitis media aguda, bronquitis, sinusitis, etc. en la población infantil.

Debido a la alta incidencia de enfermedad neumocócica y al aumento de las resistencias, la prevención de la enfermedad es muy importante. Las vacunas, tanto la polisacáridica de 23 serotipos como las conjugadas de 7 y 9 serotipos se han mostrado eficaces en la prevención de la enfermedad invasora.

El objetivo de nuestro trabajo ha sido realizar un estudio prospectivo para conocer los serotipos de las cepas de *S. pneumoniae* causantes de infecciones en la población menor de 15 años de la Comunidad Valenciana.

Material y métodos: Se evaluaron 271 cepas de *S. pneumoniae* aisladas en niños, procedentes de diferentes hospitales de la Comunidad Valenciana. Las muestras procedían tanto de líquidos estériles (sangre, LCR y líquidos pleural, pericárdico y peritoneal) como de exudados (conjuntival, nasofaríngeo y ótico) y aspirado traqueobronquial. Los serotipos se identificaron por reacción de Neufeld (reactivos del Statum Serum Institute, Copenhagen) y la sensibilidad a penicilina, ampicilina, eritromicina, vancomicina y levofloxacino se determinó por *E-test* (Izasa, Barcelona).

Resultados y conclusiones: Los serotipos prevalentes fueron 19 (27,3%), 6 (20,3%), 23 (10,0%), 14 (9,6%), 3 (8,1%), 9 (4,8%) y 11 (3,7%). Las muestras invasoras fueron más frecuentes en las edades más tempranas (0 a 5 años). Los serotipos que se aislaron en muestras invasoras (38 cepas) fueron: 19 (36,8%), 6 (21,1%), 14 (15,8%), 3 y 23 (5,3% cada uno), y 1, 5, 7, 9, 11 y no tipables (2,6% cada uno).

Los porcentajes de cepas no sensibles fueron: 56,2% a penicilina, 1,6% a ampicilina, 55,0% a eritromicina y 48,5% a clindamicina. Todas las cepas fueron sensibles a vancomicina y a levofloxacino.

El 45,3% de las cepas fueron sensibles tanto a eritromicina como a clindamicina, y el 48,4% fueron no sensibles a ambos antibióticos. El 6,3% de las cepas fueron no sensibles a eritromicina y sensibles a clindamicina.

La cobertura de la vacuna conjugada de 7 serotipos fue del 79,7% (niños menores de 2 años); mientras que la vacuna polisacáridica de 23 serotipos cubrió al 91,0% de los serotipos aislados (niños mayores de 2 años).

La elevada cobertura de las vacunas neumocócicas hace recomendable su utilización sistemática a fin de reducir la incidencia de enfermedad invasora en población infantil.

Poster AB-13

Actividad bactericida de gatifloxacino y otras quinolonas frente a *Streptococcus pneumoniae* en un modelo de simulación farmacodinámica

R. Amores, A. Calvo, D. Sevillano, L. Alou y J. Prieto

Departamento de Microbiología I, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid

Introducción/objetivos: El objetivo del estudio fue valorar la actividad bactericida de gatifloxacino (GAT) frente a *S. pneumoniae* durante 48 horas tras la administración de dos dosis orales, consecutivas, de 400 mg y comparar los resultados con los obtenidos por levofloxacino (LEV) (2 × 500 mg) y moxifloxacino (MOX) (2 × 400 mg).

Material y métodos: Se estudiaron 4 cepas de *S. pneumoniae* aisladas en infecciones del tracto respiratorio con diferente sensibilidad.

Tabla 1. CMI (µg/ml) y sensibilidad (S, I, R) de las cepas de *S. pneumoniae*.

Cepa	GAT	MOX	LEV	CIP	PEN	ERI
40	0,25 (S)	0,06 (S)	1 (S)	S	R	R
48	0,5 (S)	0,12 (S)	2 (S)	S	R	R
20	1(S)	0,25 (S)	4 (I)	R	R	S
36	4 (R)	2 (I)	16 (R)	R	R	R

Para valorar la actividad bactericida se utilizó un modelo de simulación farmacodinámica *in vitro* que deriva del bicompartimental inicialmente propuesto por Blaser y cols., con ligeras modificaciones. Un inóculo inicial de 10⁶ UFC/ml se enfrentó al perfil farmacocinético de GAT, MOX y LEV desarrollados por los fármacos a las 48 horas.

Resultados: En la siguiente tabla se presenta el incremento a las 24 (Δ24) en Log UFC/ml, con respecto al inóculo inicial y su relación con el AUC/CMI₀₋₂₄.

Cepa	GAT		MOX		LEV	
	Δ24	AUC/CMI	Δ24	AUC/CMI	Δ24	AUC/CMI
40	4,23	131,20	5,22	618,33	4,18	50,42
48	5,14	65,60	5,11	309,16	4,24	25,21
20	3,01	32,80	4,53	148,40	+0,62	12,60
36	+0,70	8,20	1,34	18,55	+0,71	3,15

GAT y MOX fueron las quinolonas que presentaron una mayor actividad bactericida, erradicando completamente 2 de las 4 cepas durante la primera dosis (24 h) y 3 de las 4 durante la segunda dosis (48 h), incluidas cepas resistentes a ciprofloxacino, penicilina y eritromicina. Se observaron recrecimientos a las 48 horas en la cepa 20 para LEV y la cepa 36 para LEV, MOX y GAT.

Conclusiones: GAT mostró un comportamiento bactericida similar a MOX y su uso está garantizado en la afecciones causadas por *S. pneumoniae* incluso por cepas resistentes a ciprofloxacino, penicilina y eritromicina. Frecuentemente se establece una buena actividad para las quinolonas cuando el cociente AUC/CMI se encuentra cerca de 30, hecho que justifica la escasa reducción de todas las quinolonas con la cepa 36 y la 20 para LEV.

Poster AB-14

Efecto de las concentraciones de moxifloxacino alcanzadas en tejidos y suero frente a *Streptococcus pneumoniae* resistente a penicilina

F. Cafini, L. Alou, O. Echeverria, B. Laguna y J. Prieto

Departamento de Microbiología I, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid

Introducción/objetivos: Quinolonas y macrólidos presentan una farmacocinética especial, que les confiere una distribución muy amplia, alcanzando elevadas concentraciones en tejidos y en fluidos del organismo. El objetivo del estudio fue valorar la actividad bactericida de moxifloxacino (MOX), levofloxacino (LEV) y azitromicina (AZ) desarrollada en suero y tejidos, frente a aislados de *S. pneumoniae* resistentes a penicilina (PEN) y/o MOX seleccionadas específicamente para este estudio.

Material y métodos: Se estudiaron 4 cepas de *S. pneumoniae* aisladas del tracto respiratorio de pacientes infectados. En la siguiente Tabla se muestra la CMI ($\mu\text{g/ml}$) y la sensibilidad (S,R) de la cepas estudiadas.

Cepa	MOX	LEV	AZ	PEN
3	0,12 (S)	1 (S)	>256 (R)	I
8	2 (S)	8 (R)	256 (R)	R
12	4 (R)	16 (R)	0,25 (S)	R
33	4 (R)	16 (R)	0,5 (S)	I

Se emplearon curvas de muerte bacteriana, en las que se enfrentó un inóculo inicial de 10^6 UFC/ml de cada microorganismo a las concentraciones máximas alcanzadas en suero total (C_{max}), libre de proteínas ($C_{\text{max}}^{\text{P}}$) y ELF a lo largo de 24 horas de estudio.

Resultados: En la siguiente Tabla se muestra el número de cepas que alcanzan una reducción del inóculo inicial $\geq 90\%$ y $\geq 99,9\%$ UFC/ml (actividad bactericida) a las 8 y a las 24 horas para los diferentes antimicrobianos.

$(\geq 90\%/\geq 99,9\%)$	C_{max}		$C_{\text{max}}^{\text{P}}$		ELF	
	8 h	24 h	8 h	24 h	8 h	24 h
MOX	3/0	4/3	1/0	2/0	3/3	4/4
LEV	1/0	2/1	1/0	1/0	4/0	4/2
AZ	2/0	2/1	1/0	2/1	2/1	2/1

MOX presentó una mayor velocidad de muerte bacteriana que LEV y AZ a las 8 horas. Además de observó una actividad bactericida sobre un número mayor de aislados con MOX a las 24 horas a concentraciones séricas totales y ELF independientemente de la sensibilidad a penicilina. MOX mostró actividad bactericida a las 24 horas frente a una de las 2 cepas resistentes a MOX y frente a ambas cepas cuando se enfrentaron a la C_{max} sérica y ELF, respectivamente.

Conclusiones: La gran actividad mostrada por mox en este trabajo, pone de manifiesto la importancia de las concentraciones alcanzadas en los tejidos respiratorios (ELF), ampliando incluso su actividad a cepas consideradas resistentes a MOX. Este hecho nos daría idea de la verdadera actividad de esta quinolona, ya que es en los tejidos respiratorios donde se produce el foco de la infección.

Poster AB-15

Perfil de la patología y prescripción antibiótica en pacientes atendidos a domicilio en una población adscrita a un Punto de Atención Continuada (PAC)

M.T. Puente Hernández y J.L. Cañada Merino

Centro de Salud de Algorta, Getxo (Vizcaya)

Introducción y objetivos: Estudio de la incidencia de infección bacteriana sospechada por el clínico a través de la prescripción antibiótica y descripción de la misma. Se plantea un estudio observacional descriptivo cuyos datos se obtienen a partir del informe que el clínico de atención domiciliaria emite en el domicilio del paciente, del cual se conserva copia en el servicio y en el que suelen figurar tanto datos de la anamnesis como de la exploración, diagnóstico y tratamiento. Ya que el objetivo del estudio es la sospecha de infección bacteriana inferida por la prescripción antibiótica no se ha incluido en el mismo a aquellos informes en que esta no sea posible y también en los casos en que el motivo de derivación sea una patología posiblemente infecciosa (neumonía, sepsis, etc.) pero la prescripción sea derivada del hospital. Por lo tanto fueron excluidos los casos de exitus y los informes de derivación hospitalaria

Material y método: La población objeto del presente estudio corresponde a usuarios de la zona urbana de la comarca *Ezkerraldea-Enkarterri* (Barakaldo y Sestao), que han precisado asistencia por parte del servicio médico del punto de atención continuada de la zona durante los meses de enero y febrero del 2000. La comarca *Ezkerraldea-Enkarterri* con una superficie de 558,4 Km², comprende 20 Municipios del Territorio Histórico de Bizkaia, y ocupa una cuarta parte de la superficie del mismo. Para la clasificación de las diferentes patologías encontradas se utilizó la Clasificación Internacional de Atención Primaria (CIAP-2). Para la clasificación de la prescripción facultativa usada en cada caso se ha utilizado la clasificación anatómica de medicamentos.

Resultados: El número de avisos realizados en este periodo de tiempo del estudio se elevó a 1680, recibiendo tratamiento antibiótico (AB) un total de 406 (24%), frente a 1274 que no lo reciben (76%); de los tratamientos AB prescritos, 159 pertenecieron al grupo de las penicilinas (39%), 61 al de las cefalosporinas (15%), 168 al de los macrólidos (42%), 16 prescripciones correspondieron a otros AB (4%), y se realizaron 2 prescripciones de sulfamidas y asociaciones. El capítulo de infección del tracto respiratorio captó un total de 368 prescripciones (91%) seguido por el capítulo de problemas generales con 14 (3%).

Conclusiones: La prescripción antibiótica prácticamente es acaparada por el capítulo de enfermedades respiratorias. El 81% de los antibióticos utilizados pertenecieron al llamado nivel 1 de la clasificación del grupo asesor de expertos del Servicio Catalán de Salud. Destaca el alto porcentaje de utilización de macrólidos (42%) frente a (39%) de penicilinas, muy superior al observado en otros estudios como el estudio SAUCE (19%).

Poster AB-16

Detección de dihidrofolato-reductasas capaces de conferir resistencia a trimetoprima mediante PCR-RFLP

J. Ruiz, M.M. Navia, J. Sánchez-Céspedes y J. Vila

Servicio de Microbiología (ICII), Hospital Clínic, Barcelona

Introducción/objetivos: El método usual para detectar la presencia de genes *dfr* en cepas resistentes a trimetoprim es la hibridación con sondas específicas. No obstante, la gran homología que existe entre las secuencias codificantes para algunos de estos genes, limita el poder discriminatorio de esta técnica. Así, el objetivo de este estudio fue diseñar una nueva técnica económica y de fácil desarrollo, para substituir la detección de genes *dfr* mediante sondas marcadas.

Material y métodos: Se obtuvieron del GeneBank las secuencias de todos los cassettes conteniendo genes *dfr*, se compararon y agruparon por similitud de secuencia, diseñándose cebadores adecuados para amplificar las diferentes agrupaciones e identificándose enzimas de restricción precisos para proceder a la identificación de los genes. Los genes *dfr* (*dfrA1*, *dfrA5*, *dfrA6*, *dfrA7*, *dfrA12*, *dfrA13*, *dfrA14*, *dfrA15*, *dfrA17* y *dfrB2*) presentes en cepas control fueron amplificados y digeridos para validar experimentalmente la técnica. En todos los casos, se comprobó la presencia del gen mediante secuenciación de los amplicones.

Resultados: Las secuencias fueron agrupadas en 5 grupos (I: *dfrA1*, *dfrA5*, *dfrA15*, *dfrA15b*, *dfrA16*, *dfrA16b*; II: *dfrA6*, *dfrA14*; III: *dfrA7*, *dfrA17*; IV: *dfrA12*, *dfrA13*; V: *dfrB1*, *dfrB2*, *dfrB3*). La enzima *Tsp509I* fue escogida para distinguir entre los genes incluidos en los grupos I y V (una segunda digestión con los enzimas *MaeIII* y *MseI* es necesaria para distinguir específicamente entre los genes *dfrA15* y *dfrA15b* o *dfrA16* y *dfrA16b*, respectivamente). *AluI* serviría para distinguir entre los genes presentes en los grupos II y III, mientras *TaqI* lo sería para identificar los genes del grupo IV. Los resultados experimentales obtenidos confirmaron al 100% las previsiones teóricas.

Conclusiones: La técnica de PCR-RFLP es sencilla, rápida y asequible, permitiendo diferenciar entre genes *dfr* estrechamente relacionados, asimismo, esta técnica puede ser modificada (diseño de nuevos cebadores, selección de enzimas de restricción alternativos, ...) en función de nuevos descubrimientos.

Poster AB-17

Actitud de la población de cuatro países europeos respecto a los antibióticos

B. Pérez Gorricho*, M.A. Ripoll y Grupo PACE

*Hospital Universitario Niño Jesús, Madrid

Introducción: El estudio forma parte del trabajo europeo PACE (*Perceptions of Antibiotic Compliance and Efficacy*), realizado mediante entrevista-cuestionario con preguntas acerca del uso de antibióticos entre los meses de febrero y marzo del año 2000.

Tabla 1. Clasificación de pacientes según origen.

País	Total	Tipo de paciente				
		Implicado	Deferente	Desinteresado	Crítico	Sin clasificar
Francia	800	302 (31%)	249 (34%)	51 (12%)	190 (35%)	8 (1%)
Alemania	854	422 (43%)	98 (13%)	79 (19%)	85 (16%)	170 (30%)
Italia	800	137 (14%)	157 (21%)	189 (44%)	185 (34%)	132 (24%)
España	800	127 (13%)	233 (32%)	108 (25%)	83 (15%)	249 (45%)
Total	3254	988	737	427	543	559

Tabla 2. Información que recibe de su médico según el tipo de paciente.

	Tipo de paciente				
	Implicado (988)	Deferente (737)	Desinteresado (427)	Crítico (543)	Total (3254)
Pacientes (%) de acuerdo:					
Información suficiente en el prospecto	455 (46%)	289 (39%)	105 (25%)	114 (21%)	1150 (35%)
El médico me ha informado todo respecto al antibiótico	429 (43%)	289 (39%)	72 (17%)	86 (16%)	1016 (31%)
Pacientes (%) que han comprendido todo:					
Cuándo comenzar el antibiótico	794 (80%)	591 (80%)	163 (38%)	338 (62%)	2218 (68%)
Durante cuánto tiempo tomar el antibiótico	758 (77%)	564 (77%)	155 (36%)	324 (60%)	2120 (65%)
Pacientes (%) que no solicitan más información:					
Si debo o no interrumpir el tratamiento cuando mejoro	509 (52%)	338 (46%)	82 (19%)	196 (36%)	1286 (40%)
Si el antibiótico puede producir efectos colaterales	347 (35%)	276 (37%)	62 (15%)	132 (24%)	940 (29%)
Cuándo debo sentir los primeros efectos de mejoría con el antibiótico	295 (30%)	208 (28%)	50 (12%)	106 (20%)	754 (23%)

Grupo PACE: J.C. Pechere (Coordinador), J.P. Stahl (Francia), R. Stahlmann (Alemania), O. Müller (Alemania), A. Tramarin (Italia), A. Rossi (Italia), C. Cenedese (Italia), B. Pérez Gorricho (España), M.A. Ripoll (España), M. Schoenfeld (Reino Unido), K. Littlewood (Reino Unido).

Poster AB-18

Caracterización de nueva betalactamasa de espectro extendido en *Proteus mirabilis* en España

N. Camino, A. Morente, T. Alarcón, L. Pérez, C. Toro, M. Martínez-Padial, R. de Julián y M. Baquero

Servicio de Microbiología y Parasitología, Hospital Carlos III, Madrid

Introducción: el objetivo de este estudio ha sido caracterizar una betalactamasa de espectro extendido (BLEE), procedente de un niño adoptado de India.

Métodos: se aislaron dos cepas de *Proteus mirabilis* procedentes de dos muestras de orina de un niño adoptado por una familia española, de nacionalidad india. La primera se recogió en Junio de 1999 y la segunda en Diciembre del mismo año. El perfil de sensibilidad de ambos *P. mirabilis* se realizó mediante técnica de microdilución con el sistema automatizado Microscan. La presencia de las BLEE se identificó mediante el método de sinergia con doble disco usando ceftazidima y cefotaxima con amoxicilina-ácido clavulánico. Las BLEE fueron extraídas mediante ultrasonificación y el extracto enzimático procedente del sobrenadante fue analizado mediante isoelectroenfoque usando geles de anfolin-poliacrilamida (pH 3,5-9,5). La visualización de las BLEE se realizó con nitrocefina.

Resultados: ambos aislamientos de *P. mirabilis* mostraban alta resistencia a ampicilina (CMI >16 mg/l), ticarcilina (CMI > 64 mg/l), cefazolina (CMI >16 mg/l), cefuroxima (CMI >16 mg/l), cefotaxima (CMI >32 mg/l), ceftazidima (CMI >16mg/l) y cefepima (MIC >16 mg/l), pero eran sensibles a amoxicilina-ácido clavulánico (CMI \leq 4/2 mg/l) y cefoxitina (CMI \leq 8 mg/l). Además presentaban resistencia a aminoglucósidos: gentamicina (CMI >8 mg/l), tobramicina (CMI >8 mg/l) y amikacina (CMI >16 mg/l), al trimetoprim-sulfametoxazol (CMI >2/38 mg/l) y a la fosfomicina. Al determinar el perfil de sensibilidad mediante disco, se observó sinergia entre amoxicilina-clavulánico y cefotaxima, y amoxicilina-clavulánico y ceftazidima; además, se observó una sinergia inusual entre cefoxitina y cefotaxima. Posteriormente se analizó el extracto enzimático mediante isoelectroenfoque, revelando la presencia de una betalactamasa con un punto isoeléctrico de 7,4

Conclusiones: existe un aumento en la aparición de BLEE en *Proteus mirabilis*, presentando una variación importante, tanto epidemiológico como geográfica. El lugar de procedencia de la cepa (India), el perfil de resistencia, la inusual sinergia entre cefoxitina y cefotaxima y el punto isoeléctrico, nos sugieren la semejanza con otras encontradas en otros países europeos (VEB), pero aún no identificadas en España.

Poster AB-19

Sensibilidad antibiótica en infecciones del tracto urinario en atención primaria

C. Marne, M.J. Lavilla, A.I. López, M.L. Aisa, I. Ferrer y M.J. Revillo

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza

Objetivos: Estudiar la etiología y los patrones de sensibilidad de los patógenos urinarios bacterianos más frecuentes en pacientes de atención primaria (AP) en comparación con los de consultas externas hospitalarias (CE) y los hospitalizados (HO) durante los últimos cinco años.

Material y métodos: Entre enero 1998 y diciembre 2002, se procesaron 147.044 muestras de orina por el sistema de selección para cultivo por detección de ATP por quimioluminiscencia. La sensibilidad antibiótica se determinó automáticamente por microdilución.

Resultados: De las orinas procesadas, 33.337 (22,7%) fueron positivos por cultivo, con uno o más aislamientos y 113.707 (77,3 %) negativos o contaminados. Las etiologías más frecuentes y la sensibilidad figuran en la siguiente tabla:

Porcentaje de sensibilidad antimicrobiana de las principales etiologías en ITU

	<i>E. coli</i>			<i>Enterococcus</i>			<i>P. mirabilis</i>			<i>K. pneumoniae</i>		
	AP	CE	HO	AP	CE	HO	AP	CE	HO	AP	CE	HO
Ampicilina	38	33	28	99	97	96	46	33	33	–	–	–
Amoxi-ác. clav.	85	79	79	99	97	96	90	84	87	91	82	79
Cefuroxima	82	77	78	–	–	–	93	86	86	88	84	80
Fosfomicina	97	94	96	75	73	73	80	64	68	76	69	74
Gentamicina	92	89	86	–	–	–	84	74	73	99	97	91
Nitrofurantoína	93	86	92	99	98	98	–	–	–	77	70	72
Norfloxacino	73	65	70	55	47	36	73	60	63	93	87	87
Cotrimoxazol	61	54	55	78	69	56	45	36	35	90	81	75

Conclusiones: 1) los % de sensibilidad en aislamientos de atención primaria superan a los de pacientes hospitalizados y de consultas externas (mayoría de urología); 2) ampicilina mantiene su eficacia frente a *Enterococcus*, con excepción de *E. faecium*; 3) la existencia de casi el 20% de aislamientos de *E. coli* resistentes a amoxicilina-ácido clavulánico y cefuroxima, justifica la realización del antibiograma antes de su utilización; 4) fosfomicina puede administrarse de forma empírica frente a *E. coli*, por sus buenos resultados; 5) los % de resistencia a norfloxacino de *E. coli*, *Enterococcus* y *Proteus mirabilis*, desaconsejan su utilización empírica; 6) nitrofurantoína, con excepción de *Proteus*, *Providencia* y *Morganella*, es un antiséptico urinario eficaz en infecciones no complicadas, al inhibir a más del 80% de las especies bacterianas más frecuentes; y 7) destaca el incremento de cepas productoras de betalactamasa de espectro extendido en ITU comunitarias, sobre todo en pacientes de edad avanzada.

Poster AB-20

Actividad sinérgica de cefepima-ácido clavulánico frente a aislados clínicos de *S. maltophilia*

M. López, E. Valero, O. Echeverría, R. García y M.L. Gómez-Lus

Departamento de Microbiología I, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid

Introducción/objetivos: El fenotipo de multirresistencia a betalactámicos en *S. maltophilia*, fundamentalmente de carácter intrínseco, se debe principalmente a la producción heterogénea de dos tipos de betalactamasas inducibles, L1 y L2. Nuestro objetivo fue valorar la actividad de diferentes combinaciones betalactámicos/inhibidores betalactamasas en busca de alternativas útiles en estas infecciones.

Material y métodos: Las pruebas de sensibilidad fueron determinadas, mediante dilución en agar, con ligeras modificaciones con respecto al estándar de la NCCLS, como supone incrementar la lectura hasta las 48 horas de incubación. La actividad se valoró sobre 125 aislados clínicos de *S. maltophilia* de cefepima (CEP), ceftazidima (CEFT), aztreonam (AZT) y ticarcilina (TIC), en combinación con ácido clavulánico (CLAV) (0,5, 1 y 2 µg/ml), sulbactam (SULB) (4 µg/ml) y tazobactam (TAZB) (8 µg/ml). A su vez AZT fue valorado en la proporción 2:1 con CLAV.

Resultados: Los resultados de sensibilidad 24 h/48 h se expresan en la siguiente Tabla. Los porcentajes de cepas resistentes se calcularon a partir de los puntos de corte establecidos por el NCCLS.

	CMI ₅₀	CMI ₉₀	%R		CMI ₅₀	CMI ₉₀	%R
CEP	32/64	128/128	76,8/84	AZT-CLV (2)	8/16	>256/>256	35,2/41,6
CEP-CLV (0,5)	32/32	64/64	56,8/64	AZT-CLV (2:1)	8/8	16/16	8,8/8,8
CEP-CLV (1)	16/16	32/64	24,8/40	CEFT	64/64	>256>256	72/74,4
CEP-CLV (2)	8/8	32/32	10,4/19,2	CEFT-CLAV (0,5)	64/64	256/256	64/66,4
CEP-SULB (4)	32/32	64/64	67,2/75,2	CEFT-CLAV (1)	64/64	256/256	70,4/71,2
CEP-TAZB (8)	16/16	32/32	36/43,2	CEFT-CLAV (2)	32/32	256/256	68/68
TIC	256/256	>256/>256	82,4/89,6	CEFT-SULB (4)	64/64	>256/>256	72,8/73,6
TIC-CLV (0,5)	64/128	>256/>256	49,6/53,6	CEFT-TAZ (8)	64/64	256/256	75,2/75,2
TIC-CLV (2)	16/32	128/256	16/23,2	IMIP	>256/>256	>256/>256	100/100
TIC-SULB (4)	256/256	>256/>256	72,8/80	MER	128/128	>256/>256	100/100
AZT	>256/>256	>256/>256	96/96	CLV	64/128	128/256	ND/ ND
AZT-CLV (0,5)	256/>256	>256/>256	83,2/87,2	SULB	>256/>256	>256/>256	ND/ ND
AZT-CLV (1)	64/128	>256/>256	64/66,4	TAZB	>256/>256	>256/>256	ND/ ND

Se observó sinergismo entre CEP y CLAV en un 75,2% de los aislados. No se observó antagonismo.

Conclusiones: Dados los fallos terapéuticos, frecuentemente documentados con TIC-CLV, es necesario valorar otras alternativas. CEP/CLV puede ser eficaz y la confirmación de su actividad mediante otras técnicas, permitirá ver las posibilidades terapéuticas de este tratamiento en el futuro.

Poster AB-21

Actividad bactericida de cefepima-ácido clavulánico frente a aislados clínicos de *S. maltophilia* mediante curvas de muerte bacteriana

M. López, D. Sevillano, E. Valero, F. Cafini y M.L. Gómez-Lus

Departamento de Microbiología I, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid

Introducción/objetivos: Combinaciones de cefepima (CEP) y ácido clavulánico (CLV) han demostrado en estudios de sensibilidad, su sinergismo y elevada actividad frente aislados clínicos de *S. maltophilia*. Nuestro objetivo fue determinar la muerte bacteriana de esta combinación, incluyendo cepas resistentes a ticarcilina/ácido clavulánico (TIC/CLV), a concentraciones alcanzadas terapéuticamente.

Material y métodos: Se seleccionaron 9 aislados de *S. maltophilia* (previamente caracterizados mediante PFGE) con pulsotipos diferentes y diferente sensibilidad a CEP, CEP/CLV 2µg/ml y TIC/CLV 2µg/ml. Los aislados fueron estudiados mediante curvas de muerte bacteriana frente a las concentraciones máximas (C_{max}), 75, 50 y 25% de la C_{max} , alcanzadas en el organismo por los citados antimicrobianos. La concentración del CLV se mantuvo fija en 2 µg/ml.

Resultados: En la siguiente Tabla se expresa el número de aislados en los que se observó una actividad bactericida (reducción >3 Log UFC/ml), a las 8 y 24 horas de estudio.

	Rango CMI (µg/ml) n = 9	C_{max} 8/24 h	C75% 8/24 h	C50% 8/24 h	C25% 8/24 h
CEP	16-128	2/2	1/1	1/1	0/1
CEP/CLV	2-32	6/7	6/6	6/4	5/3
TIC/CLV	8-256	2/0	1/0	0/0	0/0

La actividad de CEP/CLV en la mayoría de los aislados fue bactericida entre las 4 y 24 h a cualquier concentración estudiada, incluso en cepas resistentes a TIC/CLV (3/5). Se observó actividad bactericida a las 24 h en 7 de 9 aislados (77,7%) para CEP/CLV y la C_{max} . Mientras que los recrecimientos bacterianos fueron evidentes a cualquier concentración con CEP y TIC/CLV, únicamente se apreció este efecto con recuentos por encima del inóculo inicial, en una cepa y a C25%, con CEP/CLV. Reducciones de 2,7 y 3,3 Log se encontraron en cepas inicialmente consideradas resistentes a esta combinación, si aplicamos los puntos de corte establecidos por el NCCLS para CEP (≥ 32 µg/ml).

Conclusiones: Los resultados obtenidos en este trabajo, confirman los estudios de sensibilidad realizados con esta combinación y *S. maltophilia*. De especial interés se puede considerar, que cepas inicialmente sensibles a TIC/CLV experimenten fuertes recrecimientos a cualquiera de las concentraciones empleadas, hecho quizá responsable de los fallos terapéuticos encontrados con este agente en su uso clínico. CEP/CLV, no solo evita estos recrecimientos, sino que incluso demuestra actividad bactericida para la mayoría de los aislados. Estos resultados garantizan nuevos estudios que aporten nuevos datos para la posible aplicación clínica de esta combinación.

Prevalencia de resistencia a MLS en *Streptococcus agalactiae* en mujeres embarazadas

M.S. Hernández Iglesias, R. Marín Jiménez, E. Rodríguez Tarazona, M.I. García García y J.L. Muñoz Bellido

Departamento de Microbiología, Hospital Universitario de Salamanca

Introducción: *Streptococcus agalactiae* es una de las principales causas de infecciones neonatales. En caso de colonización genital o rectal en embarazadas a término, se recomienda la administración de antimicrobianos intraparto para prevenir la infección en el neonato, siendo las aminopenicilinas los antimicrobianos de elección en esta circunstancia. Penicilina sigue mostrando una excelente actividad, y no se han publicado resistencias. En caso de alergia a β -lactámicos, las alternativas más utilizadas son eritromicina y clindamicina. Sin embargo, en los últimos años la resistencia a MLS está aumentando en *S. agalactiae*, al igual que en otras especies de estreptococos. El presente estudio refleja las cifras y fenotipos de resistencia a aminopenicilinas y MLS_B en el momento actual.

Material y métodos: Se ha estudiado la actividad de penicilina, eritromicina y clindamicina, por el método de dilución en agar, frente a 70 aislamientos de *Streptococcus agalactiae* obtenidos de muestras vaginales o rectales de pacientes embarazadas a término a lo largo de cuatro meses.

Resultados: Todas las cepas se mostraron ampliamente sensibles a penicilina. Los porcentajes de resistencia a macrólidos se situaron en el 30%. Todas las cepas mostraron resistentes a eritromicina mostraron resistencia cruzada a clindamicina. No se observó fenotipo M en ninguna de las cepas.

Comentarios: Los resultados obtenidos muestran que las aminopenicilinas se siguen mostrando uniformemente activas frente a *S. agalactiae*. Los porcentajes de resistencia a macrólidos son, sin embargo, relativamente altos, si se comparan con porcentajes del 15% publicados recientemente en otros países. El fenotipo de resistencia sugiere que en la mayoría de los casos la resistencia se deba a genes del tipo *erm*, mientras el fenotipo M parece muy infrecuente. Estudios previos han mostrado en efecto que el fenotipo M, aunque puede aparecer en *S. agalactiae*, es en este momento altamente infrecuente. Estas cifras y fenotipos de resistencia hacen recomendable realizar antibiograma para MLS en todas las cepas aisladas de pacientes alérgicas a penicilina.

Poster AB-23

Prevalencia de resistencia a fluoroquinolonas en *Campylobacter*

R. Marín Jiménez, M.S. Hernández Iglesias, E. Rodríguez Tarazona, M.I. García García, J.L. Muñoz Bellido

Departamento de Microbiología. Hospital Universitario de Salamanca

Introducción

Campylobacter es, junto con *Salmonella*, el principal patógeno intestinal en España. Mientras su sensibilidad a macrólidos se mantiene casi sistemática, su resistencia a fluoroquinolonas se ha venido incrementando de manera exponencial en los últimos años, en estrecha relación con el uso de fluoroquinolonas en animales.

Material y métodos

Se han estudiado los porcentajes de resistencia a macrólidos y fluoroquinolonas en cepas clínicas de *Campylobacter* spp. obtenidas de coprocultivos a los largo de cuatro meses.

Resultados y conclusiones

Todas las cepas fueron sensibles a eritromicina. Los porcentajes de resistencia a fluoroquinolonas se sitúan en cambio en torno al 80%.

Estudios previos muestran porcentajes de resistencia en España que han evolucionado desde cifras del 60-65% en los últimos años 90 a cifras en torno al 70-75% en 2001. Otros estudios como el SENTRY muestran en cambios porcentajes de resistencia muy inferiores, con una cifras media europea del 23,6%.

La evolución de la resistencia a fluoroquinolonas en *Campylobacter* en nuestro medio se encamina hacia una resistencia casi sistemática. Son necesarias medidas para detener e invertir esta tendencia.

Poster AB-24

Actividad *in vitro* de 8-cloroquinolonas y 8-metoxiquinolonas frente a aislamientos de *Corynebacterium urealyticum* resistentes a ciprofloxacino

F.J. Sánchez Hernández¹, M.N. Gutiérrez Zufiaurre¹, B. Mora Peris², G. Yagüe Guirao², M. Segovia Hernández² y J.L. Muñoz Bellido¹

Departamentos de Microbiología, ¹Hospital Universitario de Salamanca y ²HGU Morales Meseguer, Murcia

Introducción: *Corynebacterium urealyticum* es un bacilo grampositivo que suele ser multirresistente, fundamentalmente en aislamientos nosocomiales y que está implicado fundamentalmente en la etiopatogenia de la cistitis incrustante alcalina además de causar otros cuadros infecciosos graves en inmunodeprimidos. La posibilidad de tratamiento de las infecciones causadas por este microorganismo por nuevos antimicrobianos recientemente desarrollados que muestran excelente actividad frente a otros grampositivos ha llevado a realizar este estudio con el fin de conocer la sensibilidad de *Corynebacterium urealyticum* a las 8-metoxiquinolonas (moxifloxacino y gatifloxacino) y las 8-cloroquinolonas (clinafloxacino y sitafloxacino) en relación con la actividad de ciprofloxacino.

Material y métodos: Se estudió la sensibilidad de 46 aislamientos clínicos de *Corynebacterium urealyticum* procedentes de infecciones urinarias, y resistentes a ciprofloxacino (CMI ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$) a dos 8-metoxi-6-fluoroquinolonas (moxifloxacino y gatifloxacino) y dos 8-cloro-6-fluoroquinolonas (sitafloxacino y clinafloxacino) mediante dilución en agar, siguiendo las normas de los NCCLS para enterococos.

Resultados: Todas las cepas, ya previamente seleccionadas fueron resistentes a ciprofloxacino (CMI₅₀ = 64 $\mu\text{g/ml}$, CMI₉₀ = 128 $\mu\text{g/ml}$). Las 8-metoxi-6-fluoroquinolonas mostraron una notable mejor actividad frente a este tipo de aislamientos con CMI₉₀ de 8 $\mu\text{g/ml}$ tanto para gatifloxacino como para moxifloxacino, si bien tanto la CMI₅₀ (8 $\mu\text{g/ml}$ para gatifloxacino, y 4 $\mu\text{g/ml}$ para moxifloxacino) como los intervalos (0,2-8 $\mu\text{g/ml}$ para gatifloxacino) y 0,06-8 $\mu\text{g/ml}$ para moxifloxacino) fueron ligeramente inferiores en el caso de moxifloxacino. Las dos 8-cloro-6-fluoroquinolonas probadas fueron más activas frente a este grupo de aislamientos que el resto de las quinolonas probadas con CMI₉₀ de 2 $\mu\text{g/ml}$ para clinafloxacino y sitafloxacino aunque como en el caso anterior clinafloxacino mostró una ligera mejor actividad que sitafloxacino (intervalos de 0,06-2 $\mu\text{g/ml}$ y 0,5-2 $\mu\text{g/ml}$ respectivamente)

Conclusiones: A tenor de los resultados se puede afirmar que las nuevas quinolonas desarrolladas son más activas frente a *C. urealyticum* que las fluoroquinolonas clásicas, si bien esta mejora no iguala a la obtenida frente a otros microorganismos como *S. aureus* o *S. pneumoniae*. Los cambios estructurales introducidos en posición 8 de la quinolona, por tanto aumenta la actividad de la molécula, y como en el caso de otros grampositivos la presencia de un grupo halógeno supera en actividad a la presencia de un grupo metoxi. Por otro lado cabe destacar que sitafloxacino (fluorociclopropilo en R1 y un grupo 3 aminopirrolidinil en R7) y gatifloxacino (3-metilpiperacina en R7) son ligeramente menos activos que clinafloxacino (ciclopropilo en R1 y 3 aminopiperacina en R7) y moxifloxacino (azabicyclo en R7) respectivamente, por lo que se puede inferir que la presencia de un anillo piperacínico en las cloroquinolonas o de un azabicyclo en las metoxiquinolonas influye en una mejora de la actividad frente a *C. urealyticum*.

Poster AB-25

Actividad *in vitro* de telitromicina frente a *C. urealyticum* resistente a macrólidos

F.J. Sánchez Hernández¹, M.N. Gutiérrez Zufiaurre¹, B. Mora Peris², G. Yagüe Guirao²,
M. Segovia Hernández² y J.L. Muñoz Bellido¹

Departamentos de Microbiología, ¹Hospital Universitario de Salamanca y ²HGU Morales Meseguer, Murcia

Introducción

C. urealyticum es el principal agente etiológico de la cistitis incrustada alcalina, además de producir otro tipo de infecciones, sobre todo en pacientes hospitalizados, así como infecciones urinarias inespecíficas. Como otras corinebacterias, es un patógeno frecuentemente resistente a múltiples antimicrobianos. Aunque los macrólidos fueron hace tiempo uno de los grupos de antimicrobianos recomendados frente a infecciones por corinebacterias, la evolución de los niveles de resistencia en esta familia les ha privado casi totalmente de utilidad.

Los cetólidos, nuevos derivados de los macrólidos, muestran una actividad intrínseca sensiblemente mayor que éstos frente a la mayor parte de los microorganismos incluidos en su espectro, y se muestran resistentes a muchos de los mecanismos de resistencia que afectan a los macrólidos.

Material y métodos

Se han estudiado por dilución en agar la actividad antimicrobiana de diferentes macrólidos y telitromicina frente a 64 cepas de *C. urealyticum* resistentes a eritromicina.

Resultados y conclusiones

Todas las cepas mostraron CMI de eritromicina de, al menos, 128 µg/ml. La totalidad de las cepas probadas mostraron resistencia cruzada a claritromicina, diritromicina, roxitromicina, azitromicina y diacetilmidecamicina, con CMI similares a las de eritromicina (intervalo: 64->128 µg/ml). La totalidad de las cepas probadas se mostraron sensibles a telitromicina, con CMI muy semejantes en todos los casos (CMI₅₀: 0,5 µg/ml; CMI₉₀: 1 µg/ml; intervalo: 0,5-1 µg/ml).

En términos generales, telitromicina muestra una actividad intrínseca mayor que los macrólidos, y se muestra activa contra buena parte de las cepas portadoras de mecanismos de resistencia que afectan a macrólidos. Sin embargo, en el caso de otros microorganismos multirresistentes, como SARM, se ha demostrado que la resistencia a macrólidos se mantiene en buena parte de los casos frente a telitromicina.

Es poco lo que se conoce en relación con los mecanismos de resistencia a macrólidos en corinebacterias en general, y en *C. urealyticum* en particular. En cualquier caso, se trata de un mecanismo que afecta a telitromicina en mucha menor medida, y que, a juzgar por los resultados *in vitro*, podía permitir su uso terapéutico con notable eficacia.

Actividad de telitromicina frente a neumococos con distintos fenotipos de resistencia MLS_B

M. Trigo Daporta, E. Valverde Romero, J.C. Sánchez Gómez y J.L. Muñoz Bellido

Departamento de Microbiología, Hospital Universitario de Salamanca

Introducción

S. pneumoniae es uno de los principales patógenos humanos. Durante años penicilina, y eritromicina como alternativa, han cubierto adecuadamente el tratamiento de las infecciones por neumococo. Sin embargo, desde que la resistencia a penicilina primero, y después la resistencia a macrólidos se empezaron a difundir, se comenzaron a plantear problemas terapéuticos considerables, que han impulsado el desarrollo de antimicrobianos alternativos.

Telitromicina es un nuevo cetólido con mayor actividad intrínseca que los macrólidos y activo frente a cepas portadoras de mecanismos de resistencia que sí afectan a los macrólidos. La resistencia a macrólidos en neumococo deriva en nuestro medio, sobre todo, de la presencia de genes *erm* que condicionan resistencia inducible o constitutiva tipo MLS, y en menor medida de la existencia de mecanismos de bombeo (*mefE*) que originan una resistencia a macrólidos (fenotipo M) y de menor nivel cuantitativo.

Material y métodos

Se ha determinado el comportamiento de telitromicina frente a 100 cepas clínicas de *S. pneumoniae* sensibles a macrólidos y portadores de alguno de estos fenotipos de resistencia. De las 100 cepas, 29 eran sensibles a macrólidos, 10 mostraban fenotipo M y 61 mostraban fenotipo MLS inducible o constitutivo.

Resultados y conclusiones

Todas las cepas sensibles a eritromicina se mostraron muy sensibles a telitromicina (CMI modal: <0.008 µg/ml). Las cepas con fenotipo M apenas se vieron afectadas en relación con su sensibilidad a telitromicina (CMI modal: 0.01 µg/ml). Las cepas con fenotipos MLS mostraron una mayor dispersión de CMI, pero todas ellas se mostraron sensibles, con una CMI modal de 0,06 µg/ml). Este comportamiento frente a eritromicina fue similar para todas las cepas de un mismo fenotipo, independientemente de sus características de resistencia a penicilina o a fluoroquinolonas.

Poster AB-27

Selección de mutantes resistentes a fluoroquinolonas en *Brucella melitensis*

F. García Lázaro, E. Rodríguez Tarazona, J.A. Rodríguez Polo y J.L. Muñoz Bellido

Departamento de Microbiología, Hospital Universitario de Salamanca

Introducción

Brucella melitensis es el principal microorganismo causante de brucelosis humana en nuestro medio. Los tratamientos habitualmente recomendados (rifampicina o estreptomycin + tetraciclinas) tienen un alto porcentaje de eficacia, pero no están exentos de efectos secundarios. Cuando aparecieron las primeras fluoroquinolonas sistémicas, se consideró que, de acuerdo con sus características teóricas, podían ser una alternativa adecuada para el tratamiento de la brucelosis. Sin embargo, estudios clínicos posteriores mostraron unos porcentajes considerables de fracasos y recidivas. Diversos estudios han apuntado que ello era debido a la reducción de la actividad de las fluoroquinolonas en el interior de los fagolisosomas, y otros lugares de acantonamiento del microorganismo a bajo pH, pero esta circunstancia no se ha confirmado con claridad. Por el contrario, nunca se han realizado estudios sobre las características de los microorganismos aislados en los fracasos terapéuticos ni sobre la facilidad con que las fluoroquinolonas puedan seleccionar mutantes resistentes en *B. melitensis*.

Material y métodos

En el presente estudio se ha determinado la frecuencia de selección de mutantes resistentes a fluoroquinolonas por norfloxacin en *B. melitensis*. El estudio se ha llevado a cabo a partir de la incubación de *B. melitensis* ATCC 23457 (CMI de ciprofloxacino 0,1 µg/ml) en caldo Wilkins Chalgren durante 48 horas, a 37 °C en atmósfera con 10% de CO₂, hasta alcanzar concentraciones de al menos un 1 en la escala de Mc Farland. Posteriormente se realizan siembras en agar chocolate con concentraciones de fluoroquinolonas al menos 4 veces superiores a la CMI de la cepa original, llevándose a cabo un recuento del crecimiento en comparación con el control, siguiéndose un proceso similar con los sucesivos mutantes encontrados.

Resultados

El estudio realizado muestra que, en el primer pase, se obtiene una cepa con una CMI de ciprofloxacino de 2 µg/ml con una frecuencia de 1×10^{-6} . En el segundo pase el primer mutante originó una cepa con una CMI de ciprofloxacino de 4 µg/ml con una frecuencia de selección similar (1×10^{-6}). Esta cepa generó a su vez un mutante resistente con una CMI de 8 µg/ml, con una frecuencia de 1×10^{-7} .

Conclusiones

Estos resultados indican que *B. melitensis* muestra una notable facilidad para seleccionar mutantes resistentes a fluoroquinolonas, lo que podría estar relacionado con la aparición de fracasos terapéuticos tras el tratamiento de brucelosis con estos fármacos. Estos estudios deberán continuarse con la caracterización molecular de las cepas resistentes obtenidas y el estudio de la capacidad de diferentes fluoroquinolonas para la selección de los mismos.

Poster AB-28

Resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella* spp. causantes de diarrea del viajero

R. Cabrera^{1,2}, J Ruiz^{1,3}, M. Arroyo⁴, F. Marco¹, M.A. Usera⁴, J. Gascón³ y J. Vila¹

¹Servicio de Microbiología, ICII, Hospital Clínic, Barcelona, España; ²Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", Ciudad Habana, Cuba; ³Sección de Medicina Tropical, UASP, Hospital Clínic, Barcelona, España; ⁴Servicio de Bacteriología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, España

Introducción

En la actualidad la diarrea del viajero (DV) es una infección frecuente en la cual las *Salmonellas* juegan un papel importante, ya que junto con *E. coli* (ETEC, EaggEC, EPEC), *Shigella* spp. y *Campylobacter* spp. constituyen la etiología más frecuente en viajeros de países tropicales y subtropicales. La diarrea del viajero (DV) es una afección de etiología muy variada que constituye un problema de salud que se ha incrementado con la aparición de cepas resistentes a los antibióticos.

Objetivos

Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de 61 cepas de *Salmonella* spp. causantes de diarrea del viajero (DV).

Materiales y Métodos

En este estudio analizamos un total de 61 cepas de *Salmonella* aisladas de heces de viajeros con diarrea, recibidas en el Laboratorio Clínico del Hospital Clínic y Provincial de Barcelona en el periodo de enero de 1996 a enero de 2003. Para su identificación las cepas fueron sembradas en caldo rapaport y agar SS. Se les determinó la susceptibilidad antimicrobiana por el método de Kirby-Bauer, frente a 12 antibióticos: ciprofloxacino (Cip), ácido nalidíxico (Nal), norfloxacino (Nor), cloranfenicol (Cm), gentamicina (Gm), ampicilina (Amp), tetraciclina (Te), Amoxicilina/clavulánico (A/C), amikacina (Ak), cotrimoxazol (SxT), imipenem (Imp) y ceftazidima (Caz). La interpretación de los resultados se llevó a cabo según según las normas del NCCLS.

Resultados

El 29,5 % de las cepas aisladas pertenecían al serotipo *Enteritidis* y el 14,8 % al serotipo *Typhimurium*, no se identificó el serotipo de las restantes cepas. Los niveles de resistencia detectados fueron especialmente elevados para Te (27,9 %), Nal y Amp (22,9 %), también se detectaron cepas resistentes a SxT y A/C (9,8 %), Cm (8,2 %) y Gm (4,9 %). Cabe decir que 8 cepas (13,1 %), presentaron resistencia a 3 o más antimicrobianos simultáneamente. El 71,4% de las cepas resistentes a Nal pertenecen al serotipo enteritidis habiendo sido aisladas en su totalidad entre los años 2000-2003. No se detectó resistencia a Cip, Ak, Imp, Caz.

Conclusiones

Es destacable el elevado número de cepas no pertenecientes a los serotipos *Enteritidis* y *Typhimurium* que se aíslan en heces de pacientes con DV. Los niveles de resistencia a diferentes antibióticos en cepas de *Salmonella* spp. causantes de diarrea del viajero son elevados. Es especialmente significativo el aumento de la resistencia a ácido nalidíxico, en especial en el serotipo enteritidis.

Poster AB-29

Resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* a fluoroquinolonas

A. Bazarra¹ y A. Castro²

¹Departamento de Ciencias de Salud y ²Medicina, Universidad de La Coruña, España

Antecedentes

Los agentes de antimicrobianos usados para el tratamiento de gonorrea han disminuido su eficacia debido a la capacidad de los mecanismos de resistencia desarrollados por *Neisseria gonorrhoeae*. La disminución de la incidencia de gonorrea en los últimos años debido por el miedo al virus de la inmunodeficiencia humana. No obstante ahora se está disparando.

Objetivo

Estudiar la resistencia de la *Neisseria gonorrhoeae* a las fluoroquinolonas.

Métodos

Se hace una revisión de la resistencia de *Neisseria gonorrhoeae* a las fluoroquinolonas en una base mundial.

Resultados

En la actualidad los agentes recomendados son las cefalosporinas: cefixima 400 mg, oralmente dosis única, y ceftriaxona 250 mg/día, i.m. una sola inyección. Otros agentes son fluoroquinolonas: ciprofloxacino 500 mg, oralmente como una sola dosis y ofloxacino 400 mg/día, oralmente como una sola dosis, lo que hace facilita el cumplimiento del tratamiento. Hasta entonces no se detectaron resistencias a las cefaloporinas, la resistencia a las quinolonas es un problema grande. Guarda relación con la prostitución.

Conclusiones

Nosotros debemos ayudar a prevenir la resistencia del gonococo a las fluoroquinolonas y guardarlos como agentes antimicrobiológicos de elección. Por lo que deben realizarse cultivos.

Poster AB-30

Tratamiento de la coinfección con *Treponema pallidum* en pacientes con infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

A. Bazarra¹ y A Castro²

¹Departamento de Ciencias de Salud y ²Medicina, Universidad de La Coruña, España

Antecedentes

El predominio de la sífilis ha disminuido con el uso de antibióticos. En los últimos años se da un rebrote entre personas infectadas con HIV. Debido a este virus ha cambiado la historia natural de la sífilis, la dosificación y duración de tratamiento requerido. Los estudios controlados no responden a muchas de las cuestiones planteadas.

Objetivo

Estudiar el tratamiento para sífilis entre las personas infectadas con VIH.

Métodos

Se hace una revisión del problema en función de una base de datos a nivel mundial.

Resultado

El tratamiento de la sífilis en pacientes con infección por HIV es un problema complejo. Para la sífilis primaria es conveniente el tratamiento de la infección primaria independientemente de la coinfección por HIV. Azithromicina tiene muchas características para ser un tratamiento adecuado, es activo *in vitro*, tiene eficacia en el modelo del conejo, alcance los niveles altos en tejidos y su vida es larga. Ceftriaxona es activa *in vitro*, tiene eficacia en el modelo del conejo, alcance niveles altos en tejidos, tiene una penetración buena en líquido céfalorraquídeo y su vida también es larga. Podría ser considerado una alternativa a la penicilina en caso del alergia y en la sífilis de mujeres embarazadas que no tienen otra alternativa. Algunos estudios observaron recaídas neurológicas después de la administración de dosis altas de penicilina.

Conclusiones

A pesar de que la sospecha de infección por HIV complica el tratamiento de la sífilis, el tratamiento es el mismo en pacientes con o sin la infección de HIV. Ceftriaxona puede ser una alternativa razonable.

Poster AB-31

Evolución de la resistencia a antibióticos de los aislamientos de *E. coli* procedentes de muestras de orina en un hospital general

J. Martínez-Ricarte, A. Blasco, A. Menasalvas, C. Guerrero, C. Ramírez y M. Segovia

Servicio de Microbiología, Hospital J.M. Morales Meseguer, Murcia

Introducción: *E. coli* es el principal microorganismo causante de infección urinaria tanto de adquisición comunitaria como nosocomial. Conocer la proporción de cepas resistentes a los antibióticos más comúnmente utilizados en el tratamiento empírico supone una gran ayuda terapéutica.

Objetivo: Describir la evolución de la resistencia a antibióticos de los aislados intrahospitalarios de *E. coli* de origen urinario.

Material y métodos: Se ha estudiado la sensibilidad a: ampicilina (AMP), amoxicilina-ácido clavulánico (AMC), cefazolina (KZ), cefuroxima (CXM), cefotaxima (CTX), ciprofloxacino (CP), cotrimoxazol (SXT), gentamicina (CN), y tobramicina (TO) de los aislados procedentes de muestras de orina de procedencia hospitalaria procesadas en nuestro hospital desde enero de 1997 a diciembre de 2002. La identificación y el estudio de la sensibilidad antibiótica se realizó en los paneles Combo de orina del sistema *Microscan* (Dade Behring Inc.).

Resultados: La proporción (%) de cepas resistentes a cada antibiótico se expresan en la siguiente tabla:

Año	AMP	AMC	KZ	CXM	CTX	CP	SXT	CN	TO
1997	70	14	9	4	0	28	43	13	10
1998	64	7	6	6	1	31	44	13	7
1999	68	8	8	6	1	26	38	13	7
2000	72	9	13	5	1	28	37	12	8
2001	67	12	10	4	2	26	37	10	8
2002	66	14	11	5	4	28	35	5	5

Conclusiones: La proporción de cepas de *E. coli* resistentes a antibióticos ha permanecido estable, en nuestro hospital, durante el período de estudio. En los últimos años parece observarse una disminución de la resistencia a aminoglucósidos y cotrimoxazol y han aparecido cepas de *E. coli* productoras de betalactamasa de espectro extendido. Dada la elevada proporción de cepas resistentes a ciprofloxacino, debería evitarse su uso en monoterapia para tratar infecciones graves o complicadas.

Poster AB-32

Estudio del uso de cefepima en un hospital general

M. Sampere, A. Morón, G. Serrate, D. Fontanals y F. Segura

Corporació Parc Taulí, Sabadell (Barcelona)

Introducción/objetivos: Cefepima es una aminotiazol α -metoxiimino cefalosporina de cuarta generación que posee un amplio espectro de actividad. Los objetivos de nuestro estudio son: 1) analizar el uso de cefepima en un hospital general; 2) analizar la evolución de la sensibilidad de los microorganismos frente a este antibiótico; y 3) analizar la respuesta clínica en pacientes tratados con cefepima por sospecha de infección respiratoria nosocomial.

Material y métodos: El estudio se realizó en la Corporació Parc Taulí de Sabadell (Barcelona) desde 1998 hasta el año 2001. Los pacientes tratados con cefepima fueron identificados a través de la base de datos del Servicio de Farmacia. Para el estudio de la evolución de la sensibilidad se utilizó la base de datos informatizada del Laboratorio de Microbiología. Desde junio del año 2000 hasta diciembre del año 2001 se aplicó un protocolo de tratamiento con cefepima a pacientes con sospecha de infección respiratoria nosocomial.

Resultados: Desde 1998 hasta el año 2001 han recibido cefepima en nuestro hospital 45, 63, 86 y 166 pacientes, respectivamente. El número total de dosis diaria definida fue de 3362,7 y los días promedio de tratamiento 7,9. La sensibilidad de *E. coli* frente a cefepima fue del 99,5%. La sensibilidad de *P. aeruginosa* frente a los principales antipseudomónicos testados en nuestro hospital fue del 92,3% para piperacilina-tazobactam, amikacina 90,7%, piperacilina 89%, imipenem 87,3%, cefepima 84,6%, ceftazidima 81,9% y aztreonam 73,8%. *S. aureus* fue sensible en un 80% de los aislamientos frente a cefepima y oxacilina. *S. pneumoniae* mostró un porcentaje de cepas sensibles que descendió de un 100% inicial hasta el 70% en el año 2001, mientras que las tasas de sensibilidad de *S. pneumoniae* en los mismos años frente a cefotaxima fueron del 90,5% y 89,8%. El promedio de cepas sensibles de *S. pneumoniae* en los cuatro años del estudio fue del 83,1% frente a cefepima y del 85,1% frente a cefotaxima. Se realizó un seguimiento prospectivo de 28 pacientes tratados con cefepima por sospecha de infección respiratoria nosocomial, en 17 casos el diagnóstico fue de neumonía nosocomial. La evolución fue favorable en el 75,5% de los casos (13/17), en un caso se cambió el tratamiento por fracaso terapéutico y otros tres pacientes murieron.

Conclusiones: Desde la introducción de cefepima en nuestro hospital en el año 1998 son cada vez más los pacientes tratados con este antibiótico. La sensibilidad de *E. coli* y *P. aeruginosa* frente a cefepima se ha mantenido estable durante los cuatro años del período de estudio. *S. aureus* presenta las mismas tasas de sensibilidad frente a cefepima y oxacilina. La resistencia de *S. pneumoniae* a cefepima ha aumentado progresivamente.

Cefepima muestra un buen perfil de actividad frente a los gérmenes implicados en las infecciones nosocomiales lo que hace que esté especialmente indicada en este tipo de infecciones.