Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES

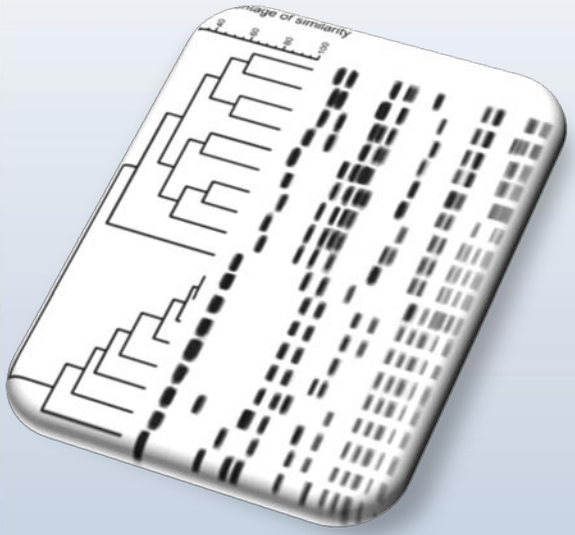
# PRIMERAS JORNADAS
# Equipos de IRAS de Hospital
# Antequera, 4 de noviembre 2014

# LABORATORIO DE REFERENCIA EN ANDALUCÍA PARA TIPADO MOLECULAR DE PATOGENOS NOSOCOMIALES Y DETECCIÓN GENOTÍPICA DE MECANISMOS DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE INTERÉS SANITARIO

Felipe Fernández Cuenca
Hospital Universitario Virgen Macarena
UGC Enfermedades Infecciosas y Microbiología

JUNTA DE ANDALUCIA
Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES

# Antecedentes



1. Reconocimiento como laboratorio de referencia (UPRA) en noviembre de 2013.

2. Finalidad: tipado molecular de bacterias MR y ofrecer información relevante en tiempo real para el control de brotes producidos por bacterias MR.

# Objetivos (I)

- Servir de apoyo al **SVEA** en la detección, investigación y control de alertas por bacterias MR.

- Determinar la **relación clonal** de los aislamientos de patógenos nosocomiales MR mediante la combinación de pruebas fenotípicas y genotípicas en tiempo suficiente para poder tomar medidas de control adecuadas.

- Estudio fenotípico y genotípico de los **mecanismos de resistencia** de patógenos nosocomiales de interés y que puedan favorecer el desarrollo de medidas terapéuticas y/o preventivas.

# Objetivos (II)

- Identificación y **seguimiento de clones** de microorganismos MR que circulen en centros hospitalarios de la Comunidad.
- Creación de una **base de datos** con los genotipos de interés.
- Servir de **centro centinela** para la detección de nuevos mecanismos de resistencia en patógenos nosocomiales o de la comunidad.

# Cartera de Servicios (I)

## Resistencia a antimicrobianos

- **Detección de resistencia a oxacilina (SARM) en *Staphylococcus aureus*.**
- **Detección de resistencia a vancomicina en *Enterococcus spp.***
- **Detección e identificación de genes de beta-lactamasas de espectro extendido (BLEE) tipo TEM, SHV y CTX-M, más frecuentes en nuestro entorno, en enterobacterias.**
- **Detección e identificación de genes de AmpC plasmídicas y cromosómicas.**
- **Detección e identificación de genes de beta-lactamasas que hidrolizan carbapenems (carbapenemasas).**

# Cartera de Servicios (II)

## Tipado molecular o Genotipado

- **Enterobacterias productoras de BLEE o carbapanemasas.**
- **Otras enterobacterias multirresistentes**
- ***Acinetobacter baumannii***
- ***Pseudomonas aeruginosa***
- ***S. aureus* resistente a meticilina.**
- ***Enterococcus* resistente a vancomicina**

# Metodología

- **Detección de mecanismos de resistencia:**
  - **Marcadores fenotípicos**
  - **Marcadores genotípicos: PCR +/- secuenciación**
- **Identificación molecular:**
  - **REP-PCR, PFGE, MLST, Secuenciación**
  - **Base de datos históricas**

# Flujo de trabajo

**Primer paso**

- Solicitud de estudios .
- Recepción de aislados

**RESISTENCIA**

- Pruebas de sensibilidad
- Test rápidos
- PCR de genes diana

**TIPADO**

- PFGE
- MLST
- Comparación con bases de datos

**INFORME**

- Preliminar
- Definitivo

# Solicitud de estudios

- Contacto preliminar telefónico:
  - Autorización del envío
  - Número y tipo de aislados
- Normas de bioseguridad para realizar el envío.
- Asesoramiento epidemiológico (si se requiere): tipo de muestras, estudios ambientales, estudios de portadores….

# Perfiles de la base de datos de Andalucia

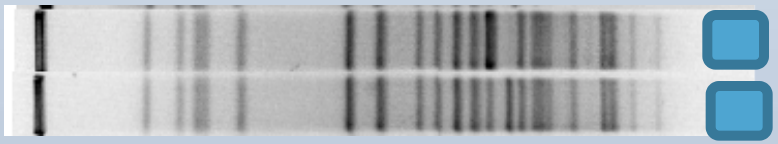
PFGE

Normalización

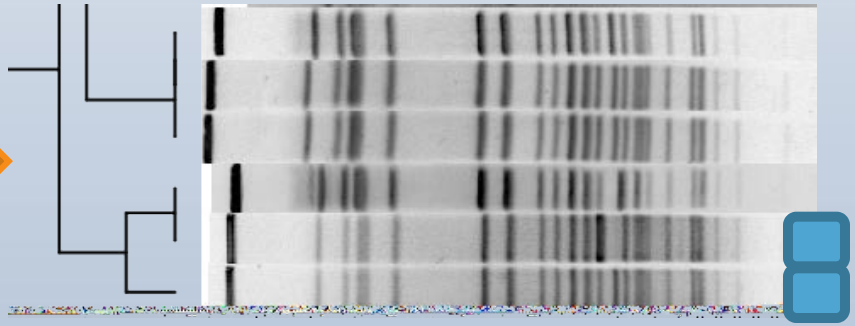
Comparación con perfiles previos

MLST

Nuevos aislados



Comparación con previos



"Laboratorio de referencia para tipado molecular de patógenos nosocomiales y detección de mecanismos de resistencia a antimicrobianos de interés sanitario de Andalucía Hospital Virgen Macarena"

Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES

**Seguimiento del brote de *A. baumannii* en Hospital Alto Guadalquivir (Andujar)**

Informe definitivo





## Introducción

El día 19 de septiembre de 2014 se recibieron 2 aislados del Hospital de Andujar procedentes de 1 paciente que había sido exitus, del que no se proporciona información sobre el área de hospitalización en el que se encontraba. Los aislados clínicos procedían de 1 muestra respiratoria y de sangre. Se procedió al análisis del perfil de sensibilidad, la relación clonal entre los aislados y la comparación con aislados previos del mismo centro.

## Métodos y resultados

***Identificación y estudio de sensibilidad***

- Los 2 aislados se identificaron como *A. baumannii* mediante panel WIDER (MicroScan), espectrometría de masas MALDI-TOFF y PCR positiva para OXA-51.
- Los resultados de CMI mediante panel WIDER coincidieron con los resultados del laboratorio de origen
- Los resultados de las PCR con cebadores específicos para grupo fueron:
  - **positivo: OXA-51 y OXA-58**
  - negativo: IMI, VIM, OXA-48, NDM, KPC

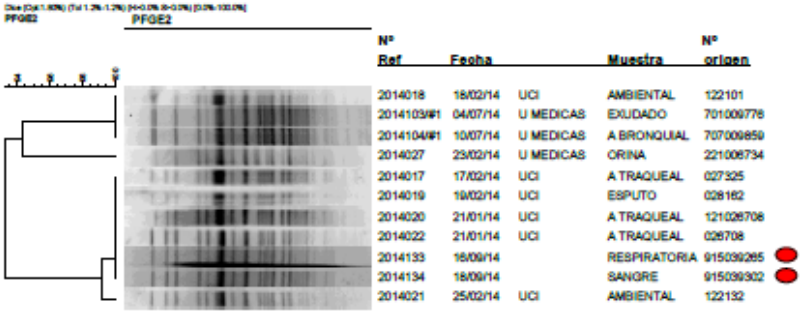
***Análisis de la relación clonal***

Se compararon los 2 aislados mediante *Apal* PFGE. El dendograma se generó mediante el índice de Dice con 1,0 % de optimización. Además, se compararon con aislados previos del mismo centro, para lo que **se modificó el punto de corte de tolerancia que se había utilizado hasta la fecha, aumentándolo y reanalizando las agrupaciones**. Esto es debido a que se detectaron discrepancias entre la inspección visual (número de bandas) y el porcentaje de similitud con el índice de Dice (Figura 1).

- Los 2 aislados son idénticos entre sí y muy similares o idénticos a aislados previos del mismo centro de pacientes de la UCI detectados en enero y febrero (0 bandas de diferencia y 99,1% de similitud).
- Existe otro agrupamiento en aislados procedentes de Unidades Médicas, muy similar al cluster de la UCI, pero observándose claramente 3 bandas de diferencia (93% de similitud con el cluster de la UCI). Este cluster incluye 2 aislados de pacientes de unidades médicas y uno de la UCI idénticos entre sí (100% de similitud). Además, se observa un cuarto aislado de unidades médicas que muestra 2 bandas de diferencia (94% de similitud) con este último agrupamiento.

- Previamente, estos dos agrupamiento[MI] habían sido caracterizados como perteneciente al secuenciotipo ST98, que es una variante alélica del ST2 y constituye el secuenciotipo fundador del complejo clonal CC2.

**Figura 1**. Dendograma de los 2 aislados mediante *ApaI* PFGE y comparación con los aislados previos del mismo centro.




Los aislados más recientes están señalados con

## Conclusiones

1. Los dos aislados enviados recientemente son idénticos entre sí y agrupan con aislados previos de la UCI. La diferencia temporal existente entre estos aislados recientes y los anteriores de la UCI sugiere la persistencia de un reservorio oculto no eliminado.

2. Se observa un cluster en la UCI, otro en las Unidades Médicas y una variante de este último, lo que sugiere al menos tres posibles reservorios secundarios a partir de un origen común reciente, ya que pertenecen todos al mismo clon productor de OXA-58.

3. Los aislados pertenecen al complejo clonal 2 (CC2) o clon europeo de tipo 2, un complejo clonal prevalente.

Elaborado por Lorena López Cerero y Felipe Fernández Cuenca

# Actividad
# Octubre 2013-Octubre 2014

- 142 aislados
- 16 Hospitales
- 36 informes

| Microorganismos | No. | determinantes |
|---|---|---|
| **Enterobacteriaceae** | | |
| *K. pneumoniae* | **68** | 41 KPC-3; 6 OXA-48; 11 OXA-48 + CTX-M-15; 9 CTX-M-15; 1 CTX-M-14 |
| *K.oxytoca* | **1** | K1 |
| *E. cloacae* | **3** | AmpC + pérdida de porinas |
| *E. Coli* | **6** | 6 OX-48 |
| **Otros Gramnegativos** | | |
| *A. baumannii* | **50** | 35 OXA-23; 14 OXA-58; 1 OXA 24/40 |
| *P. aeruginosa* | **6** | *AmpC* |
| *B. cepacia* | **5** | |
| **Grampositivos** | | |
| *S. aureus* | **1** | *mecA* |

# *K. pneumoniae* ST512 productora de KPC-3

Agosto 2012
Córdoba
Transferencia desde Italia

Abril, 2013
Cabra

Febrero, 2014
Montilla

Abril, 2014
Pozoblanco

Mayo, 2014
Sevilla

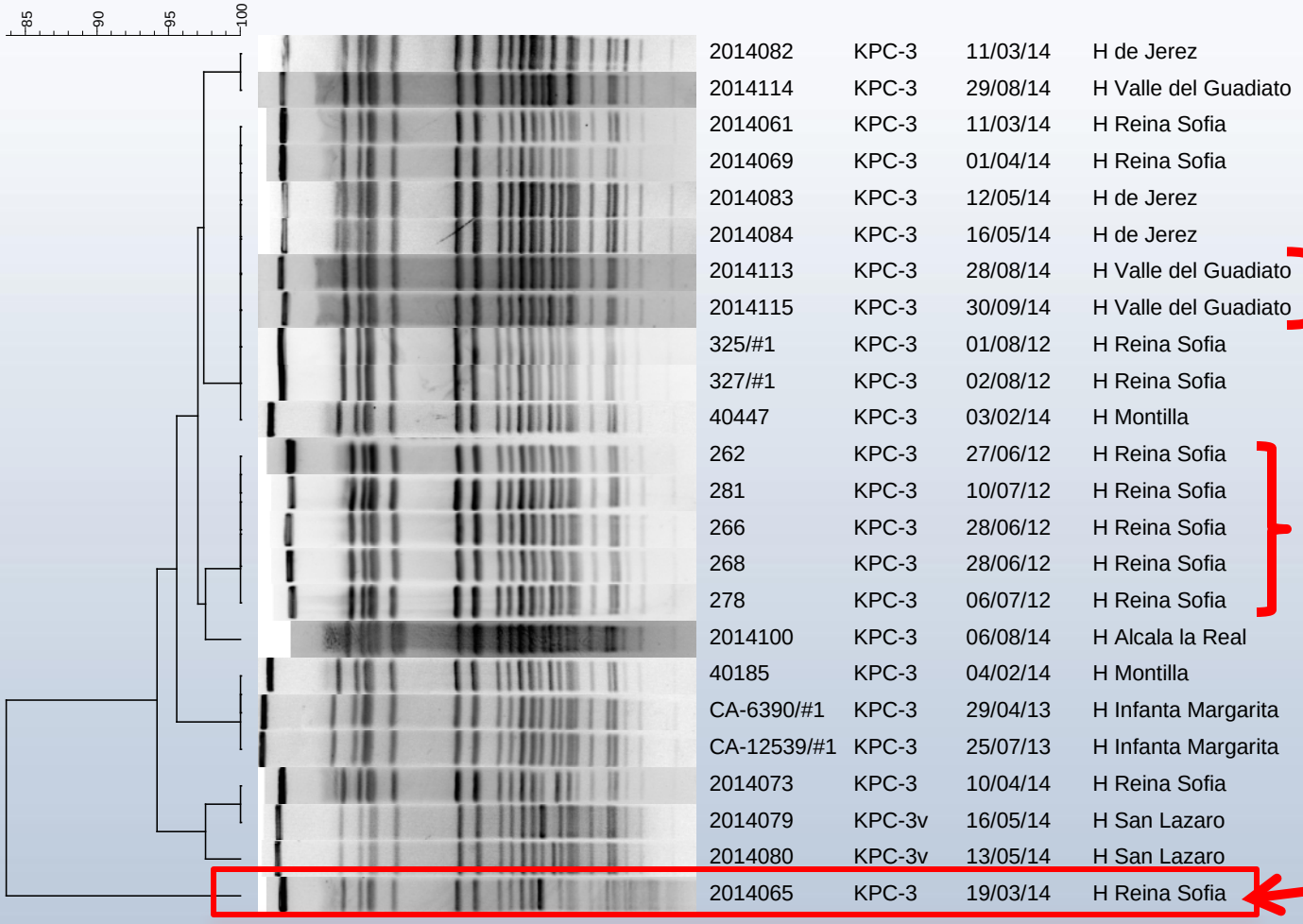
Mayo, 2014
Jerez

Agosto, 2014
Alcala la Real

# 95% similarity

Dice (Opt:0.60%) (Tol 1.2%-1.2%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

**PFGE** **PFGE**



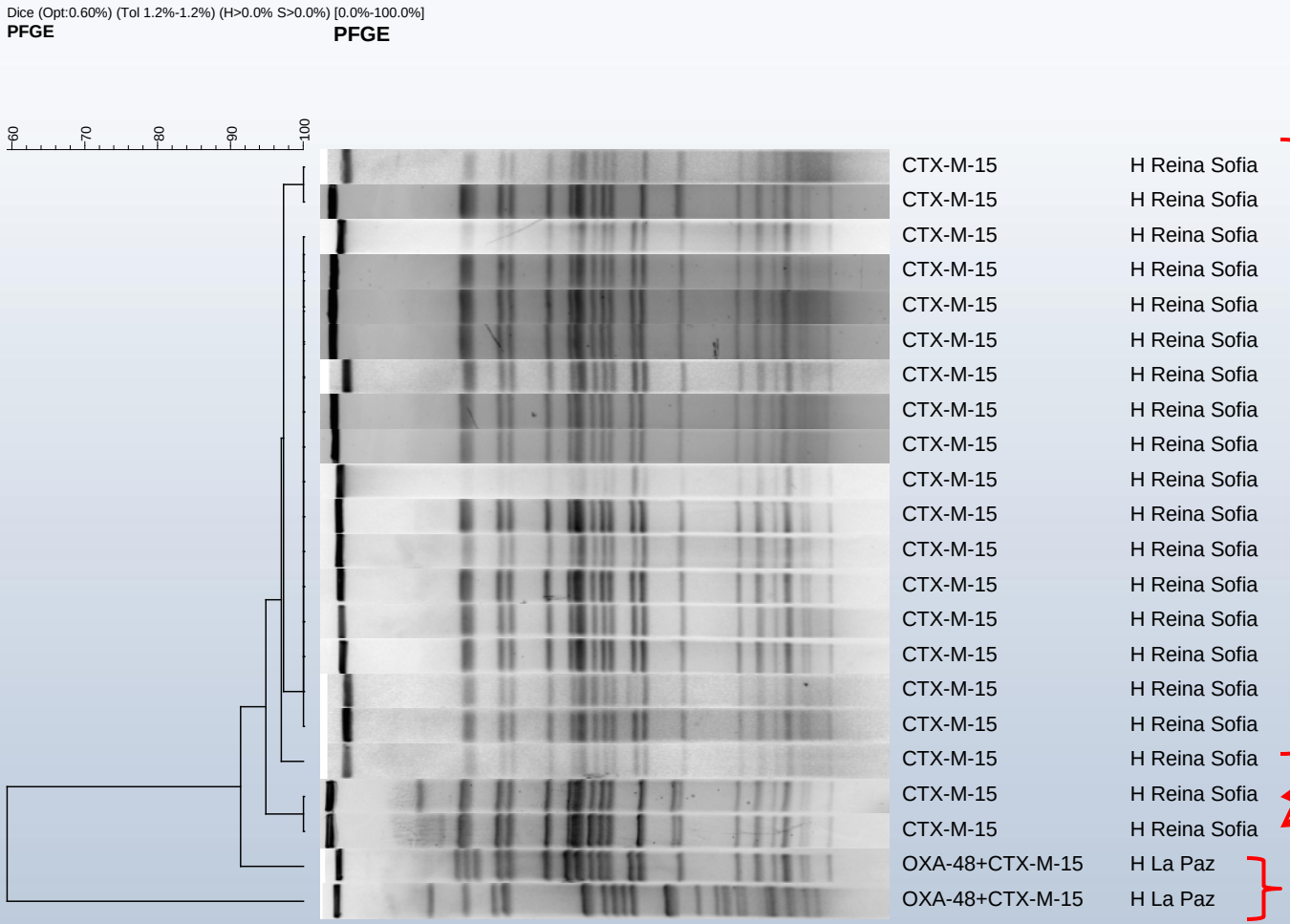

| | | | |
|---|---|---|---|
| 2014082 | KPC-3 | 11/03/14 | H de Jerez |
| 2014114 | KPC-3 | 29/08/14 | H Valle del Guadiato |
| 2014061 | KPC-3 | 11/03/14 | H Reina Sofia |
| 2014069 | KPC-3 | 01/04/14 | H Reina Sofia |
| 2014083 | KPC-3 | 12/05/14 | H de Jerez |
| 2014084 | KPC-3 | 16/05/14 | H de Jerez |
| 2014113 | KPC-3 | 28/08/14 | H Valle del Guadiato |
| 2014115 | KPC-3 | 30/09/14 | H Valle del Guadiato |
| 325/#1 | KPC-3 | 01/08/12 | H Reina Sofia |
| 327/#1 | KPC-3 | 02/08/12 | H Reina Sofia |
| 40447 | KPC-3 | 03/02/14 | H Montilla |
| 262 | KPC-3 | 27/06/12 | H Reina Sofia |
| 281 | KPC-3 | 10/07/12 | H Reina Sofia |
| 266 | KPC-3 | 28/06/12 | H Reina Sofia |
| 268 | KPC-3 | 28/06/12 | H Reina Sofia |
| 278 | KPC-3 | 06/07/12 | H Reina Sofia |
| 2014100 | KPC-3 | 06/08/14 | H Alcala la Real |
| 40185 | KPC-3 | 04/02/14 | H Montilla |
| CA-6390/#1 | KPC-3 | 29/04/13 | H Infanta Margarita |
| CA-12539/#1 | KPC-3 | 25/07/13 | H Infanta Margarita |
| 2014073 | KPC-3 | 10/04/14 | H Reina Sofia |
| 2014079 | KPC-3v | 16/05/14 | H San Lazaro |
| 2014080 | KPC-3v | 13/05/14 | H San Lazaro |
| 2014065 | KPC-3 | 19/03/14 | H Reina Sofia |

Ultimos aislados 2014

Primeros aislados 2012

Un perfil nuevo aparece en Marzo 2014

# *K. pneumoniae* ST405 productora de CTX-M-15




Brote en Neonatología H Reina Sofia Córdoba

Aislados recientes

Brote en H La Paz Madrid

# *K. pneumoniae productora de*

# OXA-48 + CTX-M-15

2012-2013
H Virgen Macarena
H San Lázaro

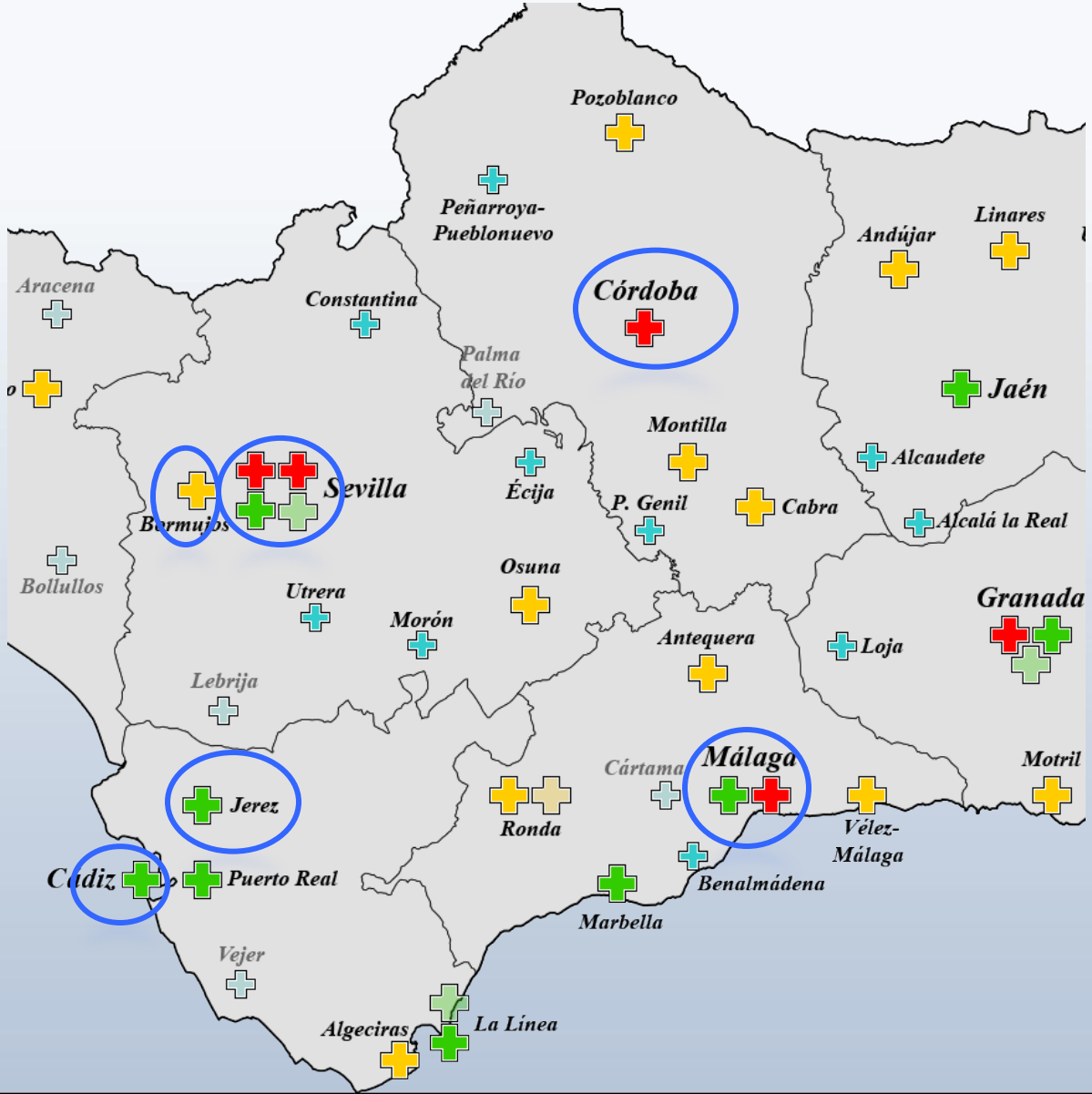
2014
H San Juan de Dios

2012-2014
H Virgen de la Victoria

2014
H Puerta del Mar

2014
H de Jerez

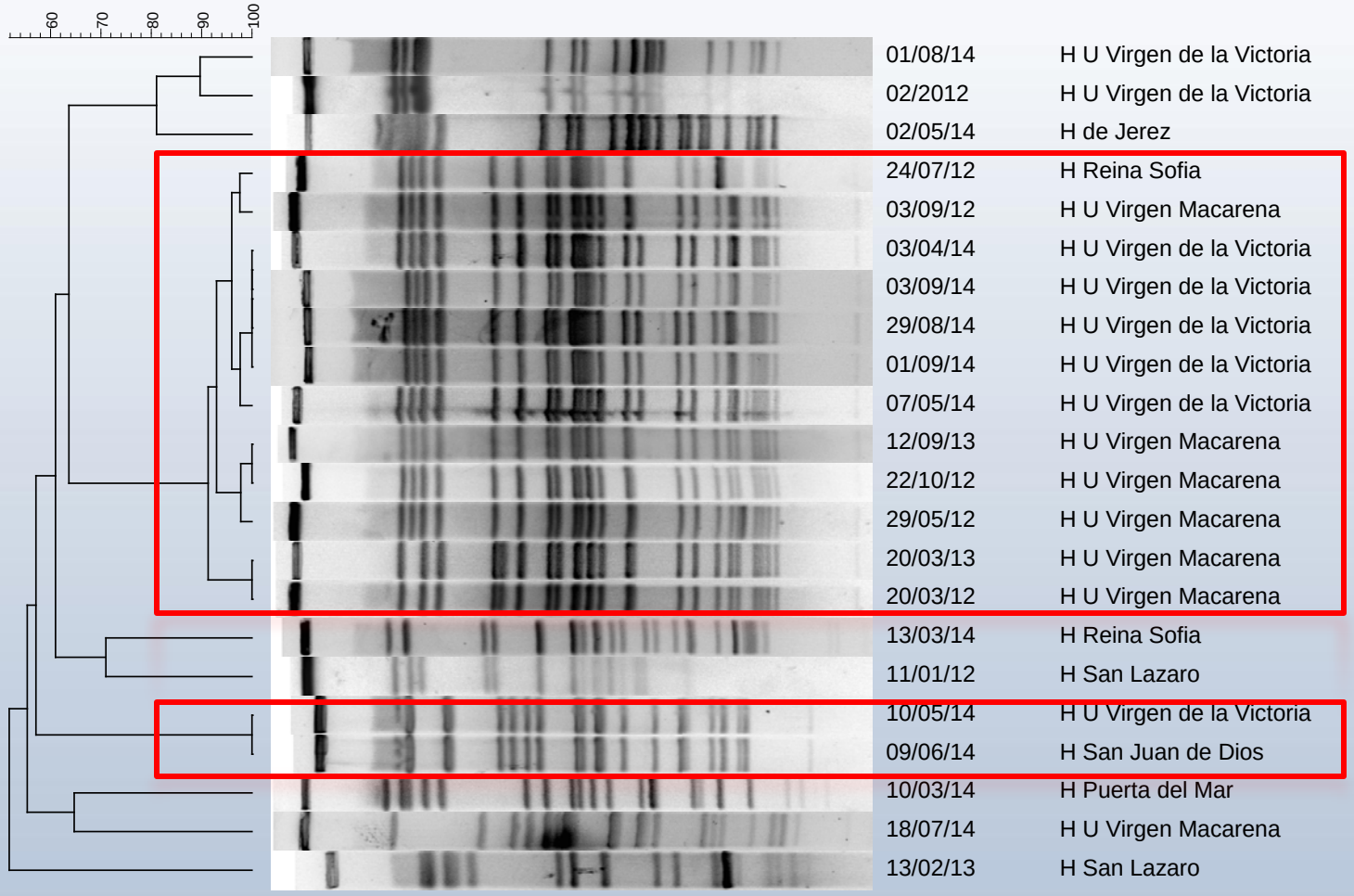
2012-2014
H Reina Sofia



# *K. pneumoniae productora de* OXA-48+CTX-M-15

Dice (Opt:0.60%) (Tol 1.2%-1.2%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

**PFGE** **PFGE**




90% similaritud
Málaga
Sevilla
Córdoba

100% similaritud
Málaga
Sevilla

# *A. baumannii resistente a carbapenemas*

Febrero-Abril, 2014
H San Cecilio
**OXA-23** ST2

Junio, 2014
H San Juan de Dios
**OXA-23**

Julio-Agosto, 2014
H Virgen de la Victoria
**OXA-23**

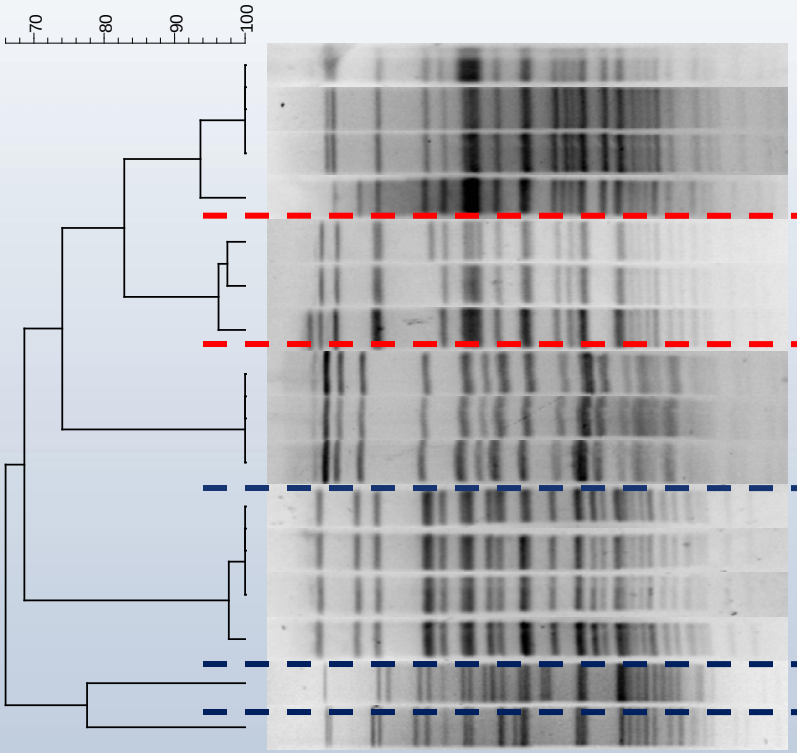
Febrero-Julio, 2014
H Andujar
**OXA-58**

Marzo, 2014
H Costa de Sol
**OXA-58**

# Differentes clones de *A. baumannii*

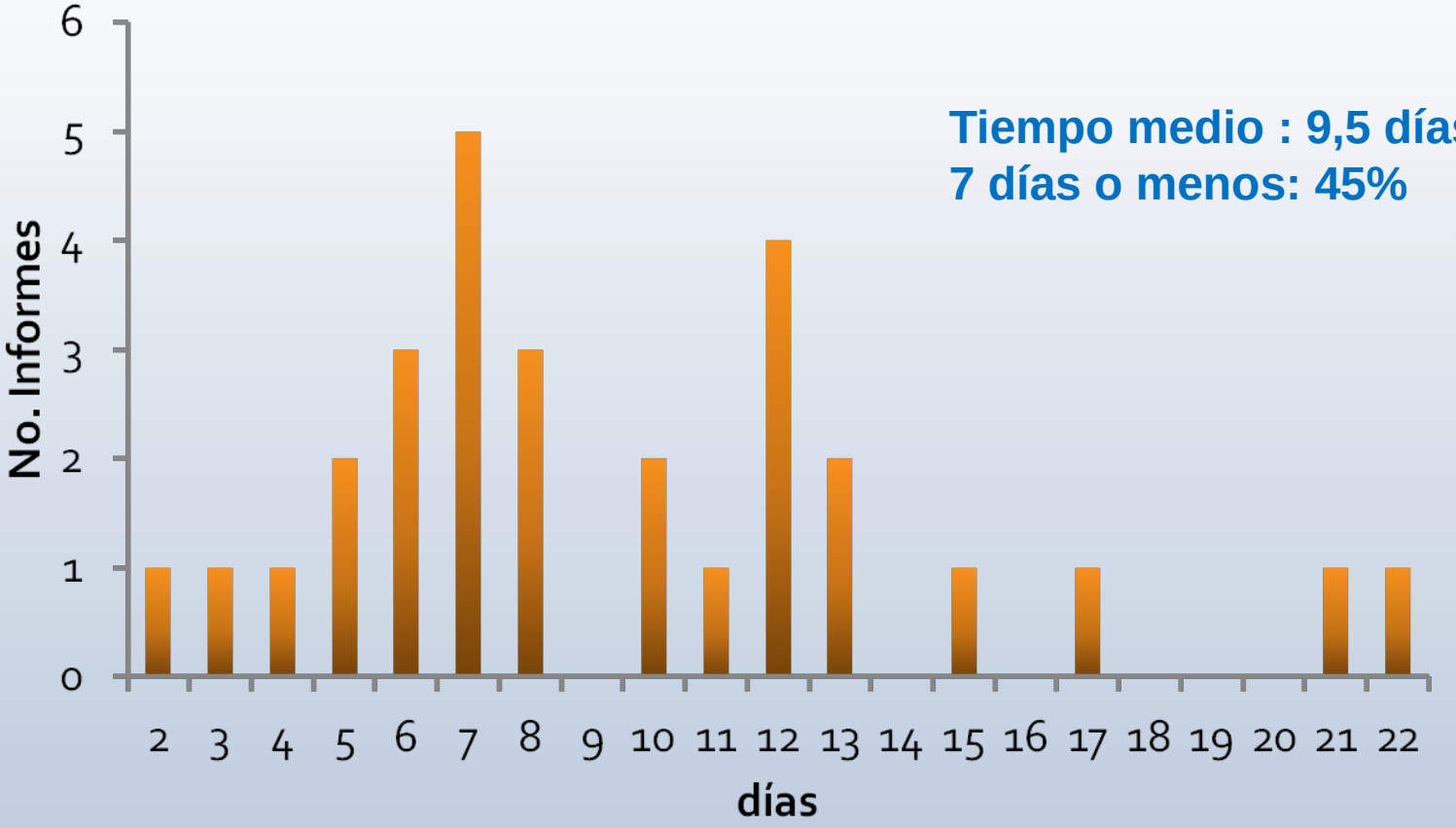
Dice (Opt:1.80%) (Tol 1.2%-1.2%) (H>0.0% S>0.0%) [0.0%-100.0%]

**PFGE2** **PFGE2**




| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 2014018 | 18/02/14 | OXA-58 | H DE ANDUJAR | OXA-58 |
| 2014103/#1 | 04/07/14 | OXA-58 | H DE ANDUJAR | |
| 2014104/#1 | 10/07/14 | OXA-58 | H DE ANDUJAR | |
| 2014020 | 21/01/14 | OXA-58 | H DE ANDUJAR | |
| 2014030 | 19/02/14 | OXA-58 | H COSTA DEL SOL | OXA-58 |
| 2014031 | 11/03/14 | OXA-58 | H COSTA DEL SOL | |
| 2014032 | 25/03/14 | OXA-58 | H COSTA DEL SOL | |
| 2014117 | 27/08/14 | OXA-23 | H VIRGEN DE LA VICTORIA | OXA-23 |
| 2014118 | 06/08/14 | OXA-23 | H VIRGEN DE LA VICTORIA | |
| 2014119 | 11/08/14 | OXA-23 | H VIRGEN DE LA VICTORIA | |
| 2014010 | 01/01/14 | OXA-23 | H SAN CECILIO | OXA-23 |
| 2014011 | 03/02/14 | OXA-23 | H SAN CECILIO | |
| 2014012 | 04/02/14 | OXA-23 | H SAN CECILIO | |
| 2014009 | 18/02/14 | OXA-23 | H SAN CECILIO | |
| 2014091 | 11/06/14 | OXA-23 | H SAN JUAN DE DIOS | OXA-23 |
| 2014092 | 13/06/14 | OXA 24/40 | H SAN JUAN DE DIOS | |

# Tiempo de emisión de informes




**Tiempo medio : 9,5 días**
**7 días o menos: 45%**

¡Gracias!