



X Reunión de la SVNRM
Vitoria-Gasteiz, 8 de noviembre,
2025

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS

*“Aportación de la microbiología en el control
de la entrada y dispersión de las bacterias
multirresistentes en el entorno hospitalario”*

Dra. Nieves Larrosa Escartín
Servicio de Microbiología
Hospital Universitario Vall d'Hebron
nieves.larrosa@vallhebron.cat





Aspectos a tratar

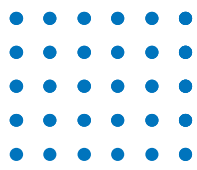
1. Introducción
2. Fundamentos del análisis de secuenciación de genomas completos (WGS) aplicados al tipado bacteriano
3. Identificación de puntos de corte de distancia genética para inferir posibles transmisiones de BMR
4. Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el Hospital Vall d'Hebron
5. Conclusiones



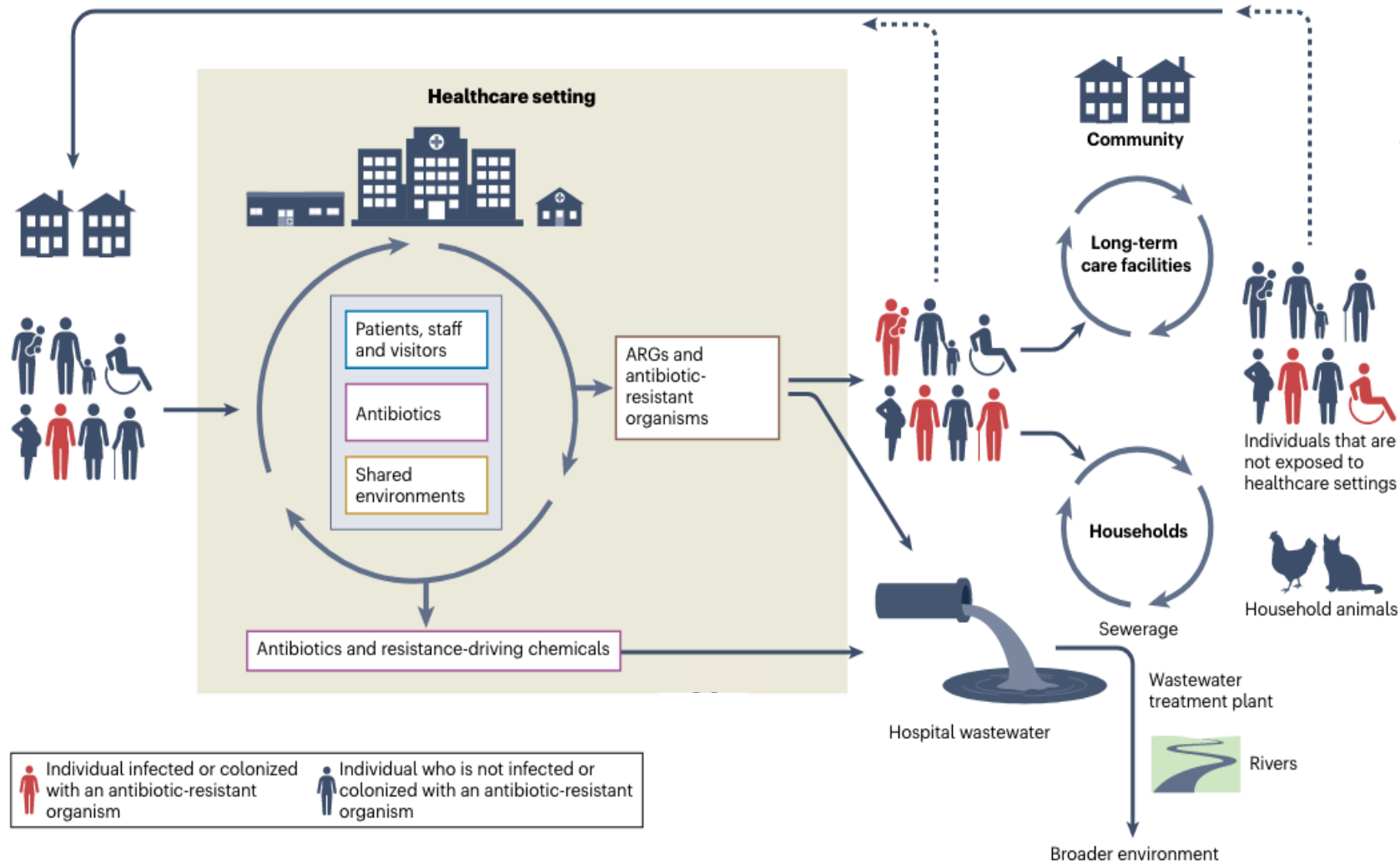
Proyecto IRAS-MR SEIMC 2017-19

Proyectos FIS PI18/00954 y PI21/01786



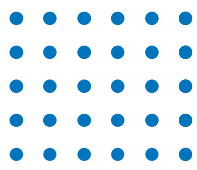


Atención sanitaria como promotora de la RAM

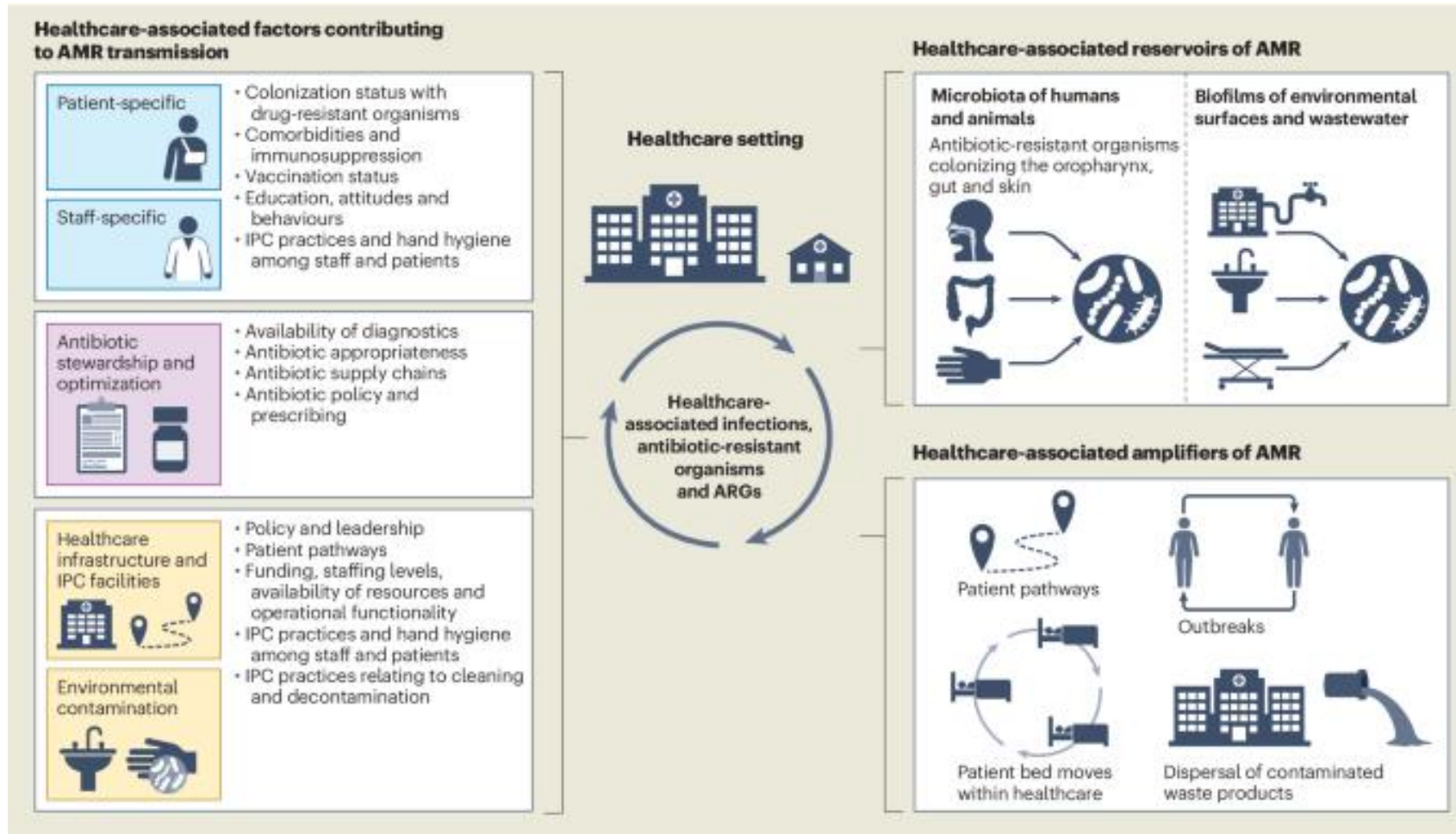


*RAM:
Resistencia a los antimicrobianos





Atención sanitaria como promotora de la RAM



*RAM:
Resistencia a los antimicrobianos



Infección relacionada con la asistencia sanitaria

Su carácter **evitable** hace que sean un buen indicador de la calidad asistencial

On any given day:



Hospitals

1 / 14

hospital patients have at least one HAI.

93 000

patients have at least one HAI.

Facts

Over 4 million HAIs were estimated to occur each year in European hospitals.

The most frequent HAIs in acute care hospitals are respiratory tract infections (including pneumonia and COVID-19), urinary tract infections, surgical site infections, bloodstream infections, and gastrointestinal infections

At least 20% of HAIs are considered preventable.

*5-10 % de los
pacientes
hospitalizados en los
países desarrollados*



Microbiological samples

HAIs are frequently treated without taking microbiological samples or samples remain negative.



Microorganisms

The responsible microorganism was identified in 61% of HAIs in hospitals.



Resistance to antibiotics

1 in 3 bacteria associated with HAIs, in hospitals, was resistant to antibiotics.

https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/images/Healthcare-associated-infections_0.png

Situación actual hospitales españoles

Estudio SEIMC_BMR-2023

REGISTRO DE INFECCIONES POR BACTERIAS MULTIRRESISTENTES (BMR)



Participación en el estudio

El estudio SEIMC-BMR 2023, en el que **han participado**

130 hospitales españoles

distribuidos por todas las Comunidades Autónomas.



40% de las camas de hospitalización del país.

Realizado gracias a la profesionalidad de los

260 investigadores

que han recogido los datos siguiendo criterios clínicos.

150.000 infecciones anuales



>20.000

pacientes fallecerán en los 30 días que siguen al diagnóstico.

Los **resultados** de este estudio son **muy semejantes a los de 2018 y 2019**, lo que los hace muy consistentes.

Fallecimientos

20 veces **más que por accidentes de tráfico.**

>20.000



Fallecidos Estudio BMR

1.145

Accidentes de tráfico en 2022



Bacterias con mayor impacto



Infección urinaria

Es la **la más frecuente** desde el punto de vista clínico.



Escherichia coli BLEE

Es **la etiología más frecuente.**



Neumonía

Es la de **mayor mortalidad.**

Fuente: estudio SEIMC_BMR-2023



Situación actual hospitales catalanes



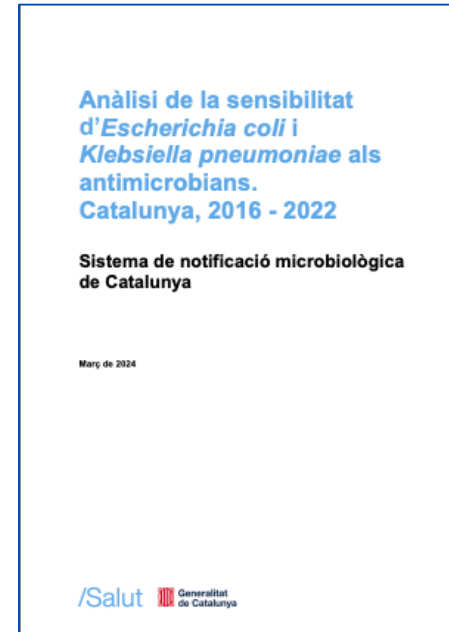
Larrosa N, et al. EIMC. 2025

Centros participantes	
Laboratorios	37
Pediatría	34 hospitales
Adultos	58 hospitales
Atención intermedia	70
Atención primaria	370

Salut/ **VIN**Cat

Vigilància de les Infeccions
 Relacionades amb l'Atenció
 Sanitària a Catalunya

<https://catsalut.gencat.cat/ca/proveidors-professionals/vincat/>



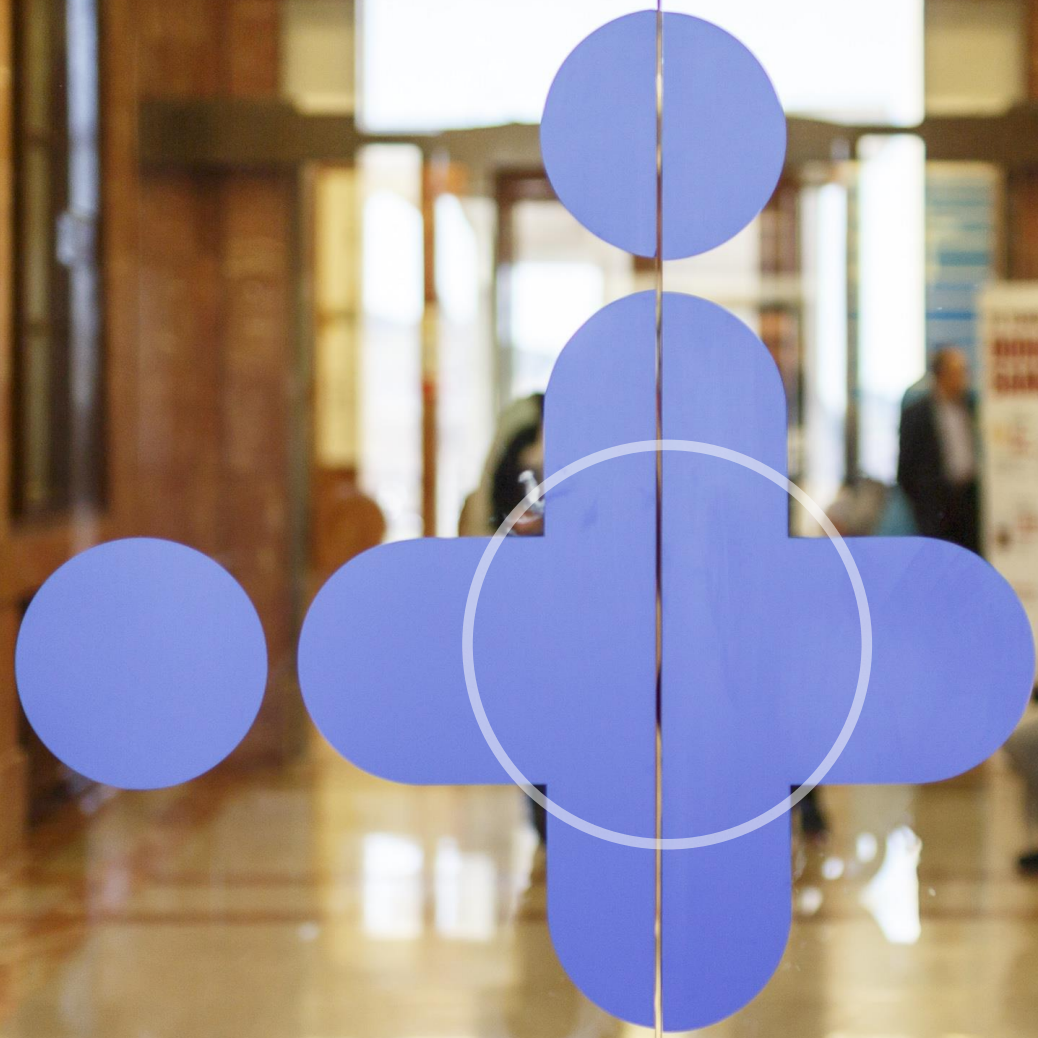
<https://salutpublica.gencat.cat/ca/ambits/vigilancia/sistemes-de-declaracio-epidemiologica/snmc/informacio-epidemiologica/Resistencia-antimicrobianes/#informes>



<https://sivic.salut.gencat.cat/>

ASPCAT:
 Infección respiratoria aguda en atención comunitaria y hospitalaria





”El Hospital Universitario Vall d’Hebron”

Vall d'Hebron Barcelona Hospital Campus



- Àrea General
- Àrea Maternoinfantil
- Àrea de Traumatologia y Rehabilitación
- Vall d'Hebron Instituto de Investigación (VHIR)
- Cemcat
- Laboratorios Clínicos y Banco de Sangre y Tejidos
- Laboratorios Clínicos (módulo azul)
- Módulos A, B y C de consultas externas
- Antigua Escuela de Enfermería
- Edificio Cellex VHIO



Un campus de referencia

+ 9.000 profesionales

+ 1.200.000 pacientes/año

+ 1.100 camas

+ 80 grupos de investigación

+ 2.000 investigadores

+ 1000 ensayos clínicos

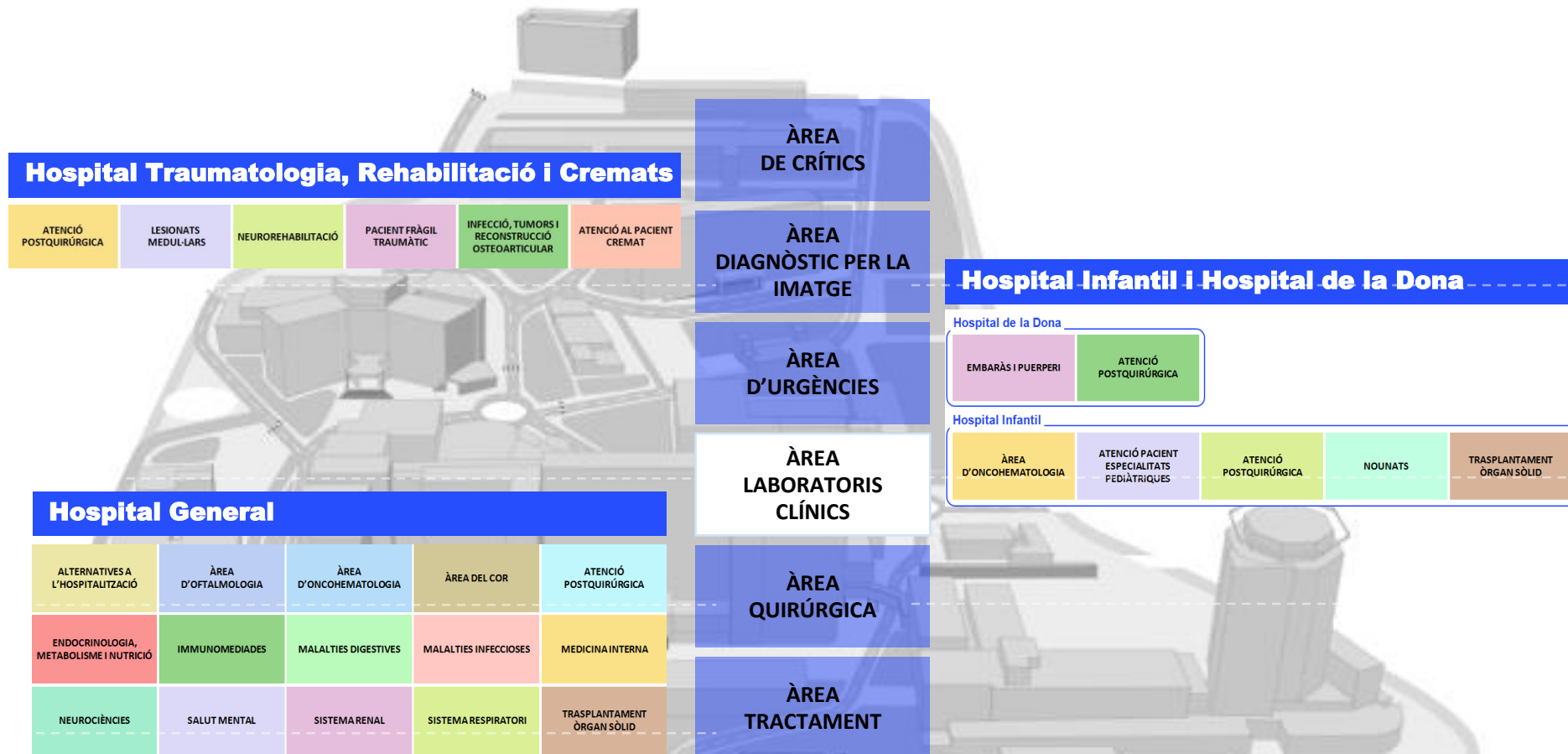
+ Formación en 47 especialidades médicas y en investigación biomédica

+ 22 edificios

Es el principal hospital terciario de Cataluña

Objetivo común: Mejorar la salud y el bienestar de las personas, desde antes de nacer hasta la vejez.

Organización por áreas de conocimiento



Hospital General



Hospital pediàtric

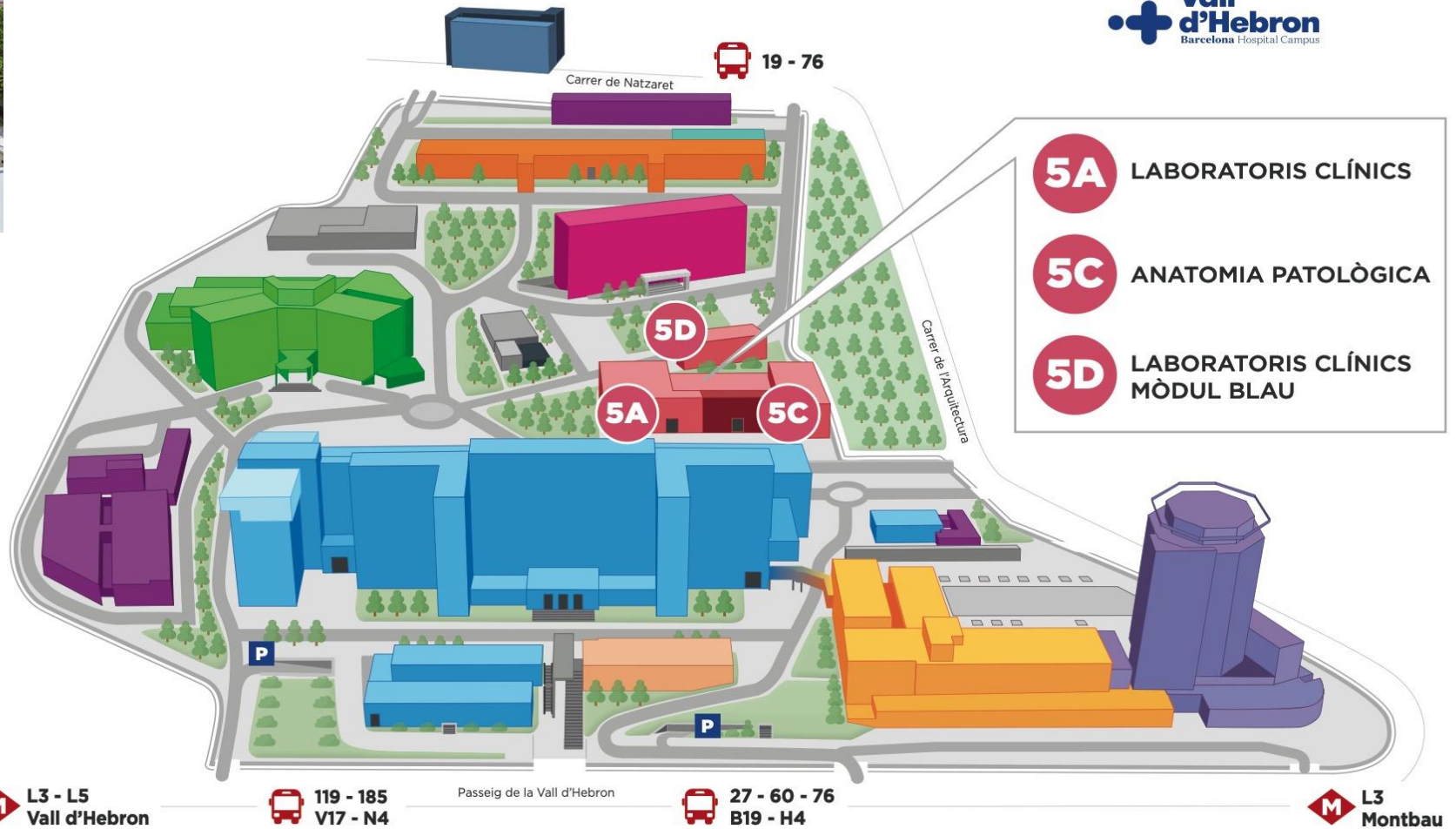


Hospital de la mujer



Hospital de trauma, rehab. y quemados

Laboratorios Clínicos Vall d'Hebron



- 5A** LABORATORIS CLÍNICS
- 5C** ANATOMIA PATOLÒGICA
- 5D** LABORATORIS CLÍNICS MÒDUL BLAU

- ✓ Da servicio a una población de 1,5 millones de habitantes. Atiende a 8.000 pacientes al día.
- ✓ Cuenta con un catálogo de más de 3.500 productos.
- ✓ Realiza 20 millones de pruebas al año.
- ✓ Certificación UNE-EN ISO 9001. Certificación UNE-EN ISO 15189.

Servicio de Microbiología y Parasitología

Modelo de atención continuada: 24h / 7d

101 profesionales:

- 23 facultativos (Medicina, Farmacia y Biología)
- 8 residentes
- 67 técnicos de laboratorio
- 2 administrativos

1.442.710 determinaciones /año 2024

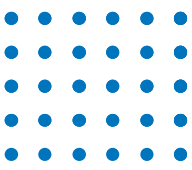
- 766.080 (53.1%) Atención Primaria
- 367.892 (25.5%) HUVH
- 212.078 (14.7%) Urgentes
- 7.213 (0.5%) Centros externos
- 2.885 (0.2%) P.S. Pere Virgili



- Técnicas clásicas: Tinciones, cultivo, serología, PCR...
- Técnicas de vanguardia: Espectrometría de masas, automatización, inteligencia artificial, técnicas de secuenciación genómica de última generación....



Equipo de control de la infección / Comisión de infecciones VH






Versió 2
Any 2024

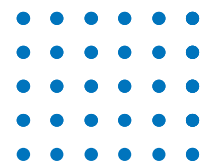
Precaucions d'aïllament per evitar la transmissió d'agents infecciosos a l'Hospital Universitari Vall d'Hebron



Nom	Càrrec	Departament / Servei
	Cap de Servei	Malalties Infeccioses (adults)
	Cap de Secció	
	Metgessa Adjunta	
	Supervisora Infermeria Control de la Infecció	Malalties Infeccioses (adults) / Medicina Preventiva
	Infermeria Control de la Infecció (H. General)	
	Infermeria Control de la Infecció (H. de Traumatologia)	
	Infermeria Control de la Infecció (H. Infantil i de la Dona)	
	Cap de Servei	Medicina Preventiva
	Metge Adjunt	
	Metge Adjunt	
	Metgessa Adjunta	Malalties Infeccioses (Pediatría)
	Cap de Secció	
	Cap de Servei	Servei de Microbiologia
	Metgessa Adjunta	
	Metgessa Adjunta	
	Metgessa Adjunta	Medicina Intensiva (H. de Traumatologia)



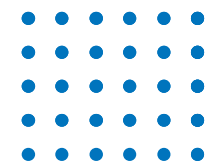
Equipo de control de la infección / Comisión de infecciones VH



Annex 1. Recomanacions per al maneig de pacients colonitzats o infectats per bacteris resistents als antibiòtics a l'HUVH.

	Hospital General i Hospital de la Dona	Hospital de Traumatologia	Hospital Infantil
Microorganismes resistents a antibiòtics per als que es recomana aïllament de contacte en totes les plantes / unitats de l'hospital	<i>A. baumannii</i> resistent a carbapenems <i>C. auris</i> <i>C. difficile</i> toxigènic Enterobacteriales i <i>Pseudomonas</i> spp. productors de carbapenemases de qualsevol tipus ERV	<i>A. baumannii</i> resistent a carbapenems <i>C. auris</i> <i>C. difficile</i> toxigènic Enterobacteriales i <i>Pseudomonas</i> spp. productors de carbapenemases de qualsevol tipus ERV <i>K. pneumoniae</i> productors de BLEE o pAmpC SARM	<i>A. baumannii</i> resistent a carbapenems <i>C. auris</i> <i>C. difficile</i> toxigènic Enterobacteriales i <i>Pseudomonas</i> spp. productors de carbapenemases de qualsevol tipus ERV <i>K. pneumoniae</i> productors de BLEE o pAmpC SARM
Microorganismes resistents a antibiòtics per als que es recomana aïllament de contacte només en les plantes / unitats de l'hospital considerades de risc	<i>A. baumannii</i> sensible a carbapenems <i>B. cepacia</i> (també a Pneumologia) <i>C. parapsilopsis</i> resistent a azoles Enterobacteriales productors de BLEE o pAmpC (excepte <i>E. Coli</i> *) <i>P. aeruginosa</i> XDR - DTR SARM <i>S. maltophilia</i>	<i>A. baumannii</i> sensible a carbapenems <i>B. cepacia</i> <i>C. parapsilopsis</i> resistent a azoles (només a unitats de crítics i Reanimació) Enterobacteriales productors de BLEE o pAmpC (excepte <i>E. Coli</i> *) <i>P. aeruginosa</i> XDR - DTR <i>S. maltophilia</i>	<i>A. baumannii</i> sensible a carbapenems <i>B. cepacia</i> <i>C. parapsilopsis</i> resistent a azoles Enterobacteriales productors de BLEE o pAmpC (excepte <i>E. Coli</i> *) <i>P. aeruginosa</i> XDR - DTR <i>S. maltophilia</i>
Quines són les plantes / unitats de l'hospital que es consideren de risc?	Cures intenses Semicrítics Unitat Cures Coronàries i Unitat Postoperatòria de Cirurgia Cardíaca Reanimació Hematologia i Unitat de Teràpies Avançades Hematològiques	Cures intenses Semicrítics Unitat de Cremats (Ilits de grans cremats) Reanimació Unitat de Lesionats Medul·lars Unitat de Cirurgia Sèptica Osteoarticular	UCI Neonatal – Semicrítics de Neonatologia UCI Pediàtrica Fibrosi quística Onco-Hematologia Pediàtrica Transplantament Pediàtric

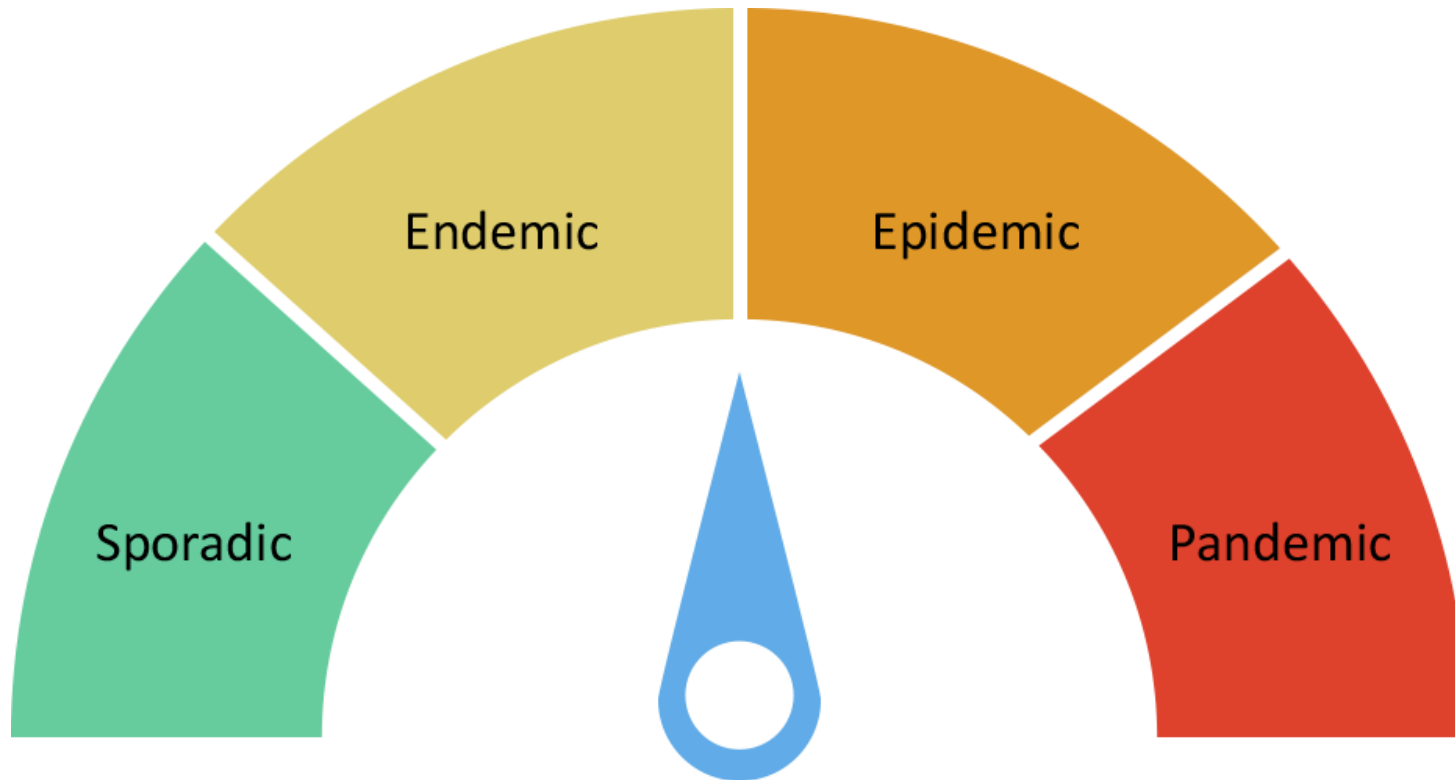
Equipo de control de la infección / Comisión de infecciones VH



	Hospital General i Hospital de la Dona	Hospital de Traumatologia	Hospital Infantil
Críteris d'actuació amb els contactes estrets dels pacients infectats o colonitzats per microorganismes multiresistents (MR) susceptibles d'aïllament	<ul style="list-style-type: none"> • Es consideren contactes estrets els pacients que han compartit habitació més de 48 hores. • En el cas de les habitacions que comparteixen bany es consideren contactes estrets a tots els pacients ingressats a les dues habitacions de bany compartit durant més de 48 hores. Aquest criteri s'aplica a tots els casos en el cas d'infeccions bacterianes. • Cursar el cribratge de portador de MR mitjançant frotis rectal en el cas de BGN MR i ERV. Existeix una petició específica per BGN-MR i altre per ERV. • En el cas de contacte estret amb pacient portador de SARM, s'ha de fer frotis nasal i engonal (pacients de qualsevol unitat de l'Hospital Infantil i de Traumatologia i pacients d'àrees de risc a l'Hospital General). • En el cas de <i>C. difficile</i> toxigènic només es farà el cribratge del contacte estret si te diarrees. • Es farà aïllament preventiu dels contactes estrets (fins a disposar del resultat del cribratge per llavors actuar en funció del resultat) en el cas de contacte amb portador de EVR o BGN productor de carbapenemases. En el cas de microorganismes susceptibles d'aïllament només a determinades àrees de l'hospital es valorarà juntament amb l'equip de control d'infecció la indicació d'aïllament dels contactes estrets dins aquestes àrees fins a disposar del resultat dels cribratges. • A l'Hospital Infantil no es recomana l'aïllament preventiu dels contactes estrets, tret que així ho indiqui l'equip de control de la infecció. 		
Críteris d'actuació davant el reingrés d'un pacient amb antecedent de colonització o infecció per microorganismes susceptibles d'aïllament	<p>Revisar les anotacions de l'equip de control d'infecció a la història clínica i considerar la situació de colonització en la que el pacient estava a l'alta de l'ingrés previ. Si el pacient procedeix d'altre centre considerar la situació definida a l'informe de trasllat.</p> <p>Si es desconeix la situació de l'alta prèvia o si hi ha antecedent de colonització / infecció per BGN productor de carbapenemases o ERV (independentment del resultat del cribratge en el moment de l'alta prèvia), es procedirà a realitzar un nou cribratge i establir precaucions de contacte fins a tenir resultats. Contactar amb l'equip de control d'infecció del centre de dilluns a divendres laborables per informar del cas .</p> <p>En cap cas el fet de NO disposar d'un resultat d'un cribratge de MR és un motiu que justifiqui endarrerir una alta. S'ha d'informar al centre receptor del resultat del cribratge.</p>		

Definiciones

Epidemia/brote: Emergencia de una enfermedad que afecta a un **número superior de individuos**, respecto a la afectación habitual, **en un tiempo determinado**



- Identificación precoz de clústeres de transmisión → brote
- Implementar intervenciones dirigidas a interrumpir la cadena de transmisión y erradicar reservorios

Estudio brotes en el laboratorio

19th CENTURY

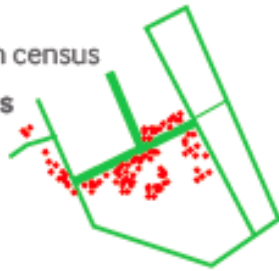
IDENTIFICATION OF SOURCE OF OUTBREAKS

Data

- Case notification and population census

Hypothesis generating methods

- Epidemiological (eg case-control studies)
- Statistical



**John Snow-Bomba de agua
fuente de cólera
Londres, 1854**

20th CENTURY

IDENTIFICATION OF CAUSITIVE AGENTS

Data

- DNA and RNA sequences of pathogens

Hypothesis generating methods

- Microbiological (eg culture and subtyping) and epidemiological



**Robert Koch-Medios de cultivo
Berlín, 1882**

21st CENTURY

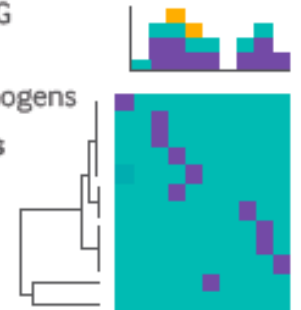
PATHOGEN GENOME SEQUENCING

Data

- DNA and RNA sequences of pathogens

Hypothesis generating methods

- Phylogenetics
- Probability theory
- Systems science
- Epidemiological

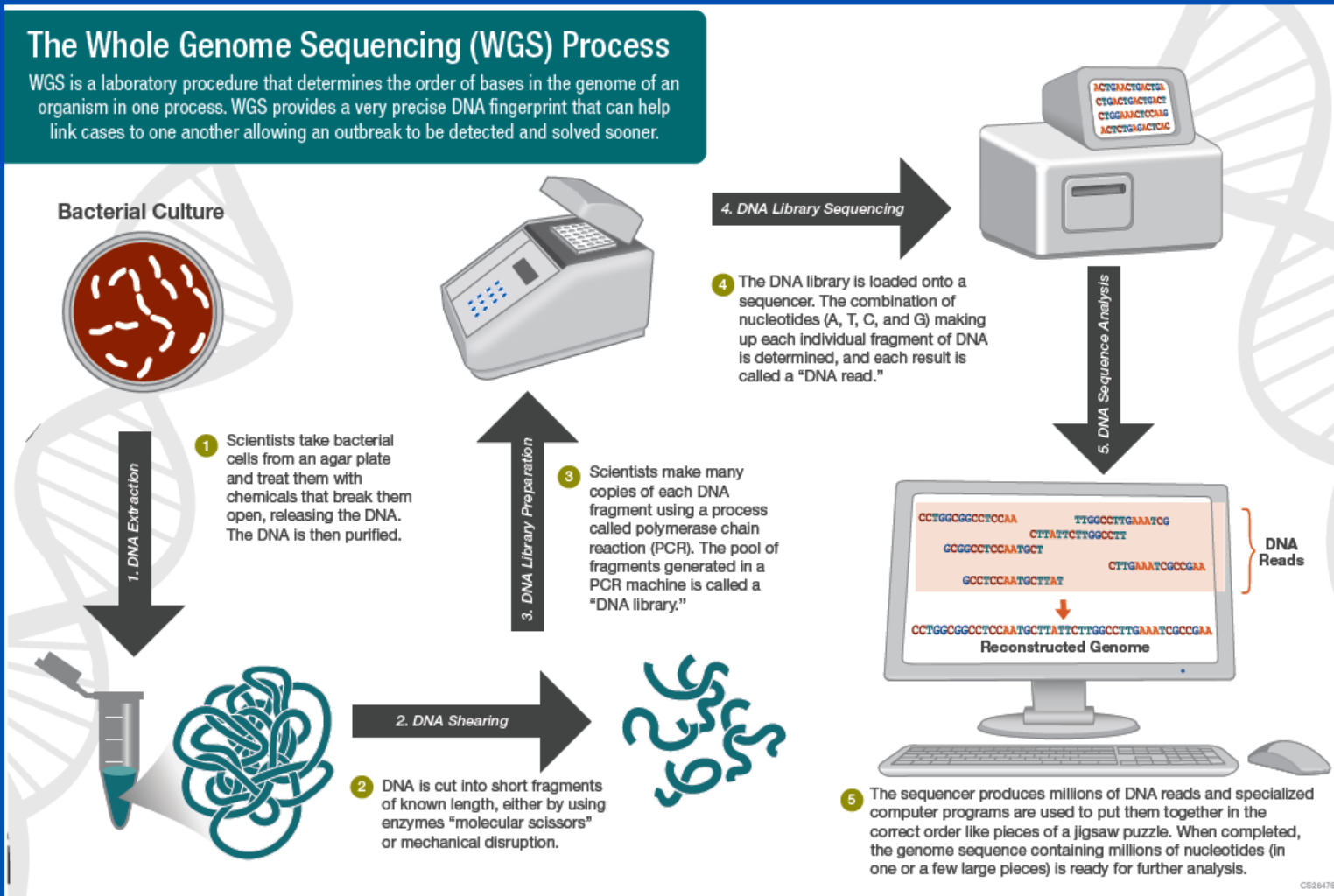


Avances en genómica

Análisis de secuenciación de genomas completos aplicado al tipado bacteriano

The Whole Genome Sequencing (WGS) Process

WGS is a laboratory procedure that determines the order of bases in the genome of an organism in one process. WGS provides a very precise DNA fingerprint that can help link cases to one another allowing an outbreak to be detected and solved sooner.



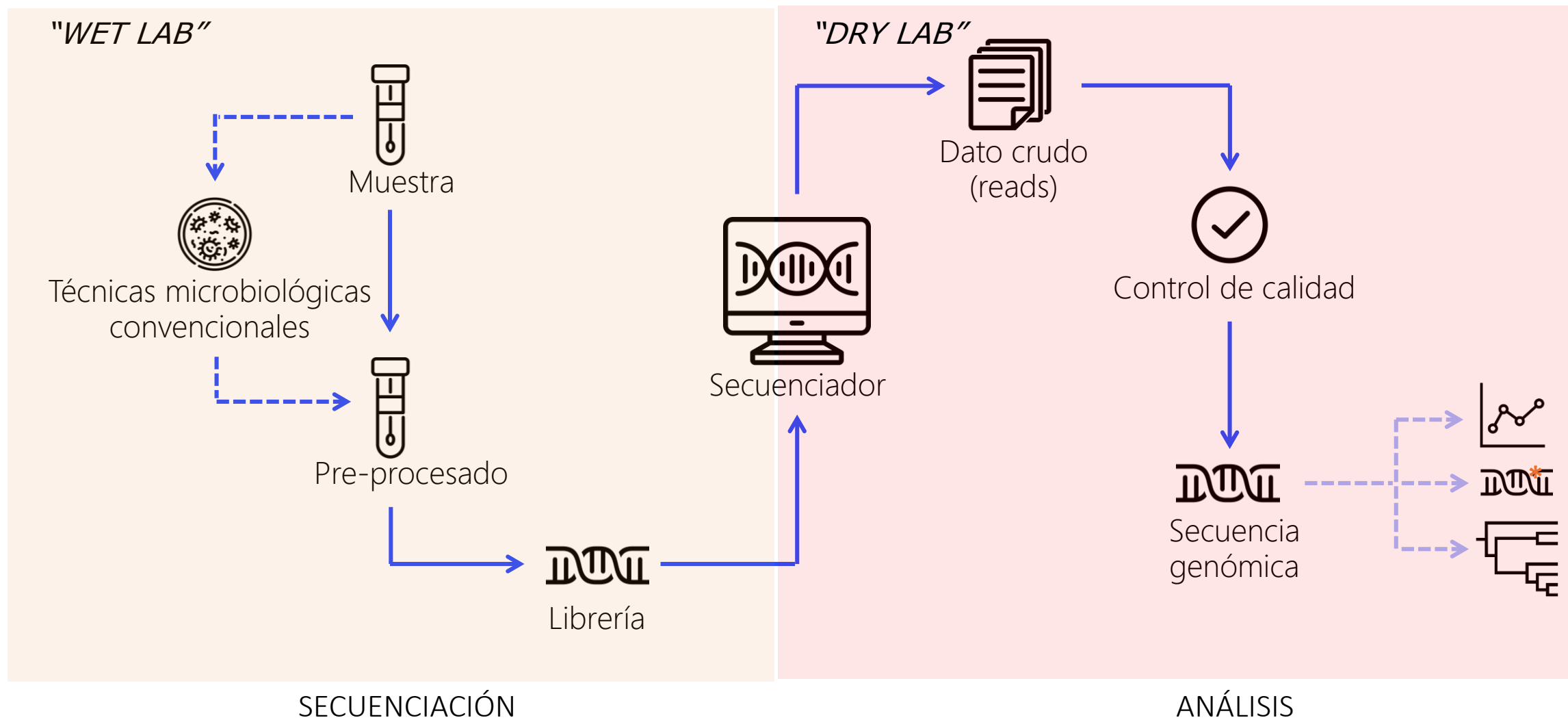
Aplicación de la secuenciación genómica en el control de enfermedades infecciosas

Application	Actionable information about infectiousness or transmissibility generated by pathogen genome sequencing	Pathogenst
Direct culture independent microbiological diagnosis	Identification of fastidious pathogens at the species and lineage levels	<i>Leptospira</i> spp ¹¹ , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ^{31 32}
Detection of cross species transmission and host adaptation in emerging pathogens	Genomic risk assessment of host adaptive mutations; discovery and impact of recombination events	Human influenza virus A H7/N9, ³³⁻³⁵ MERS-coronavirus, ³⁶ <i>Staphylococcus aureus</i> , ^{37 38} <i>Salmonella typhimurium</i> , ³⁹ <i>Streptococcus pneumoniae</i> , ^{28 40} <i>Enterococcus</i> spp ⁴¹
Pathogen risk assessment	Identification of targets for assays differentiating highly virulent pathogen strains	Influenza virus H5/N1, ^{22 23} <i>Chlamydia trachomatis</i> ^{42 43}
	Distinguishing recent from pre-existing (chronic) infection	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ^{44 45}
	Redefining periods of transmissibility	MRSA, ⁴⁶ group A streptococcus ⁴⁷
Detection, monitoring, and control of hospital acquired outbreaks	Identification of new clones associated with hospital acquired pathogens	<i>Acinetobacter baumannii</i> , ^{48 49} <i>S aureus</i> , ⁵⁰ <i>Escherichia coli</i> , ^{51 52} <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ⁵³
	Near real time identification of transmission events (patient to patient, healthcare staff to patient, environment to patient)*	<i>S aureus</i> , ⁵³⁻⁵⁹ <i>Clostridium difficile</i> , ^{53 55 60} <i>Klebsiella pneumoniae</i> ⁶¹
	Monitoring transmission and (antimicrobial resistance) gene flow between healthcare institutions	<i>C difficile</i> , ⁵⁶ <i>S aureus</i> , ⁶² HIV, ⁶³ norovirus, ⁶⁴ human influenza virus ⁶⁵
Improved resolution of regional, national, and global public health laboratory surveillance	Detection of outbreaks, covert clusters, and associated risk factors	<i>Neisseria meningitidis</i> , ⁶⁶ <i>Salmonella enterica</i> , ⁶⁷ enterohaemorrhagic <i>E coli</i> , ⁵¹ ⁶⁸ <i>M tuberculosis</i> ^{4 69 70}
	Reconstruction of outbreak origins, transmission pathways and dating of transmission events within community outbreaks (person to person contact, water and food borne modes of direct transmission)*	Ebola virus, ⁷¹ enterovirus, ⁷² <i>Vibrio cholerae</i> , ^{73 74} <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , ⁴ ^{46 75-78} group A streptococcus, ^{48 79 80} <i>Shigella</i> spp, ⁸¹⁻⁸³ <i>Legionella</i> spp ⁸⁴
	Source attribution and detecting the spatial spread (phylogeography) of disease outbreaks	MERS-coronavirus, ⁸⁵ <i>C difficile</i> , ⁸⁶ <i>Vibrio cholerae</i> ⁷⁴
	Epidemiological scale evolution and dispersal, contribution of intra-host and inter-host dynamics to pathogen evolution (person to person; environment to person modes of direct transmission; exposure to blood and vectors)*	Hepatitis C virus, ^{87 88} <i>E coli</i> , ⁸⁹ <i>Helicobacter pylori</i> , ⁹⁰ <i>S aureus</i> , ⁹¹ <i>Salmonella typhimurium</i> , ^{40 92} human influenza virus, ⁹³ <i>Cryptococcus gattii</i> , ⁹⁴ norovirus, ⁶⁴ <i>Campylobacter</i> spp, ⁹⁵ <i>S pneumoniae</i> , ⁹⁶ <i>Neisseria meningitidis</i> , ^{66 97} arboviruses ^{98 99}

*Modes of transmission of pathogens under study are indicated in parenthesis.

†MERS=Middle East respiratory syndrome; MRSA=meticillin resistant *Staphylococcus aureus*.

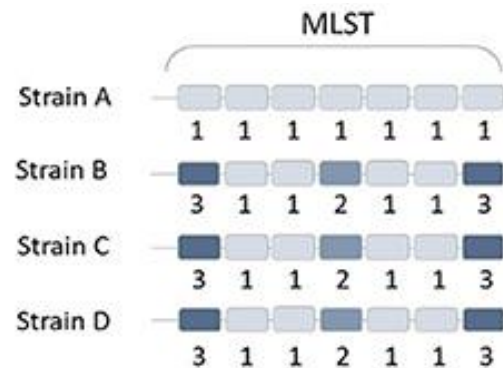
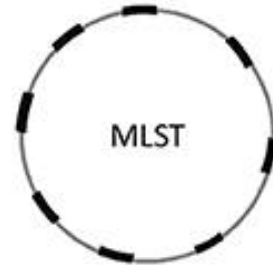
Análisis de secuenciación de genomas completos aplicados al tipado bacteriano



Aplicación de la secuenciación genómica en el control de enfermedades infecciosas

1. Aproximación gen a gen

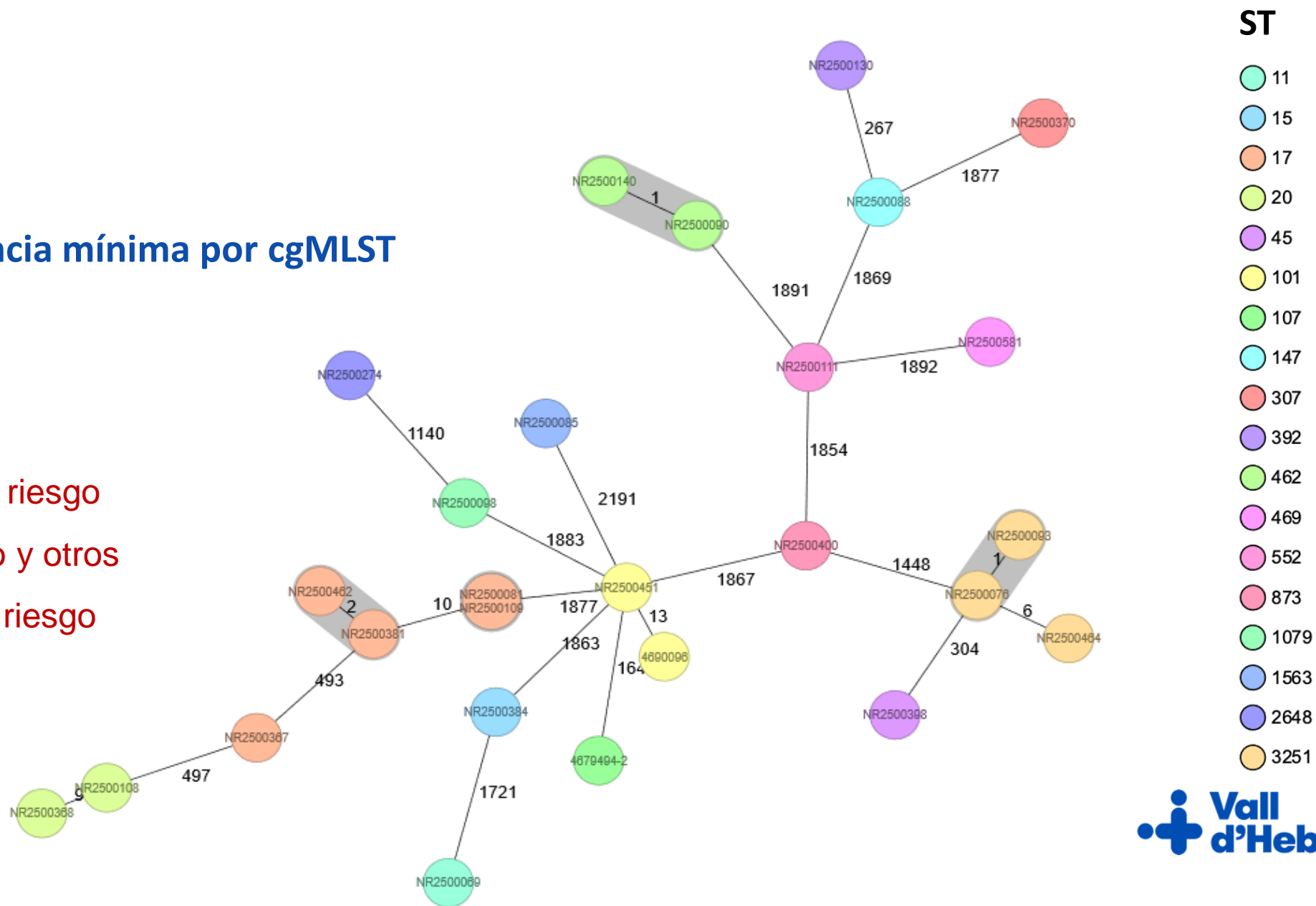
- MLST
- cgMLST
- wgMLST



Aplicación de la secuenciación genómica en el control de enfermedades infecciosas

Árbol de distancia mínima por cgMLST

Clones de alto riesgo epidemiológico y otros de bajo o nulo riesgo



Aplicación de la secuenciación genómica en el control de enfermedades infecciosas

2. Aproximación por comparación de SNPs:

SNP: Single Nucleotide Polymorphism

Reference strain C C C G G C A A T C C T C G G G A C A T C C C T G T C C G A G C G T C A A T G C C A C C C C A A A G C A C G G C T A G T G T G T T C G G C C G C C G T C C A C C C C G A C C C G C G G G G C A G A C

Strain A C C C G G C A T T C C A G G G G G C A T G C C T G T C C G A G C G T C A T T G C C A C C C C T A A G C A C G G C T T G T G T G T T G G G C C G C C G T C C C C C C G A C C C C G G G G G A G A C

Strain B C C C G G C A T T C C G G G G G G C A T G C C T G T C C G A G C G C C A T T G C C A C C C C T A A G C A C G G C T A T T G T G T T G G G C C G C C G A C C C C C G A C C C C G G G G G A G A C

Strain C C C C G G C A T T C C A G G G G G C A T G C C T G T C C G A G C G T C A T T G C C A C C C C T A A G C A C G G C T T T T G T G T T G G G C C G C C G T C C C C C C G A C C C C G G G G G G G A C

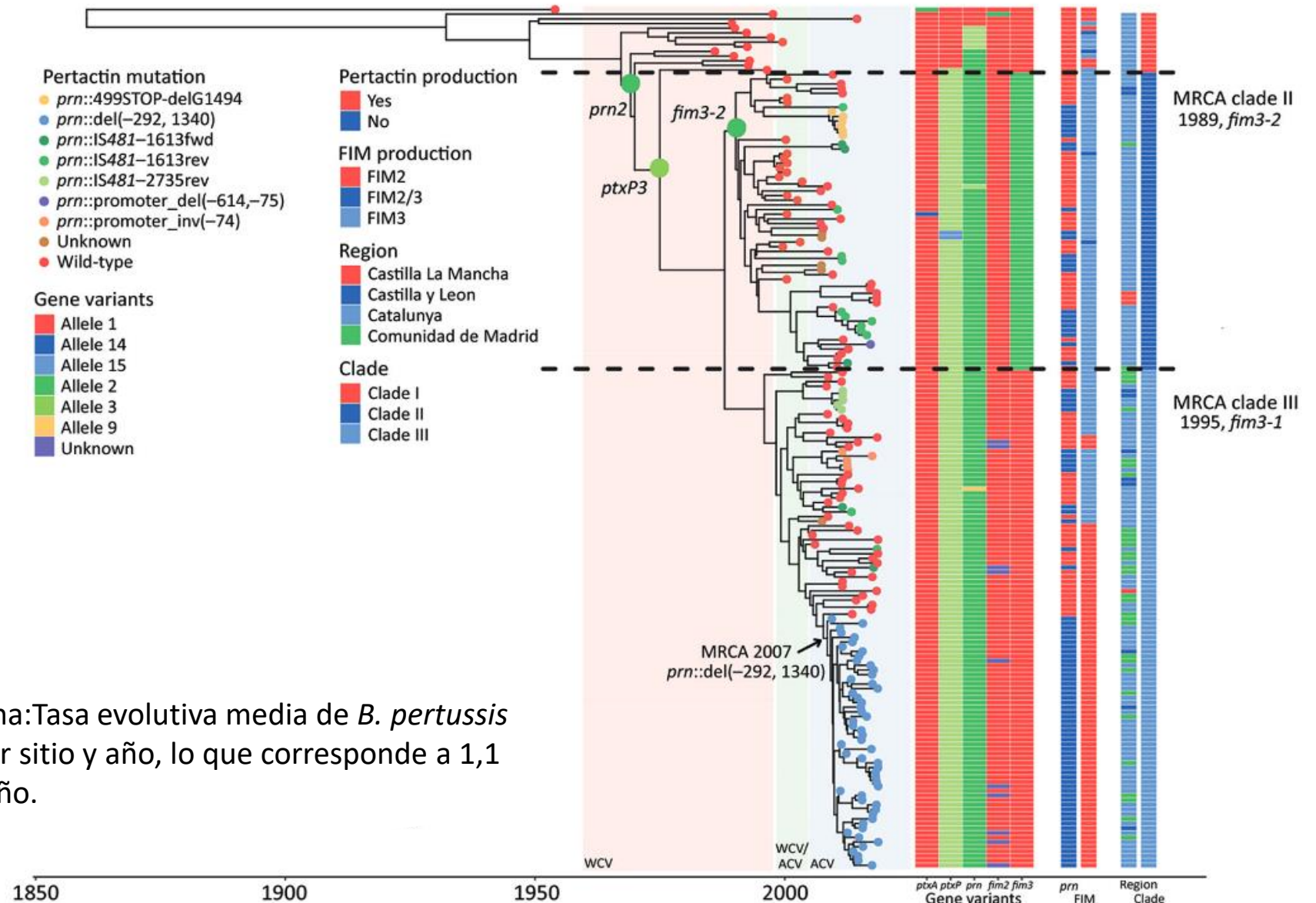
Strain D C C C G G C A T T C C A G G G G G C A T G C C T G T C C G A G C G T C A T T G C C A C C C C T A A G C A C G G C T T T T G T G T T G G G C C G C C G T C C C C C C G A C C C C G G G G G G G A C

	A	B	C	D
A				
B	5			
C	2	5		
D	2	5	0	

Matríz de distancia en SNPs

Janezic S, Rupnik M. *Frontiers in Public Health* 2019.

Aplicación de la secuenciación genómica en el control de enfermedades infecciosas

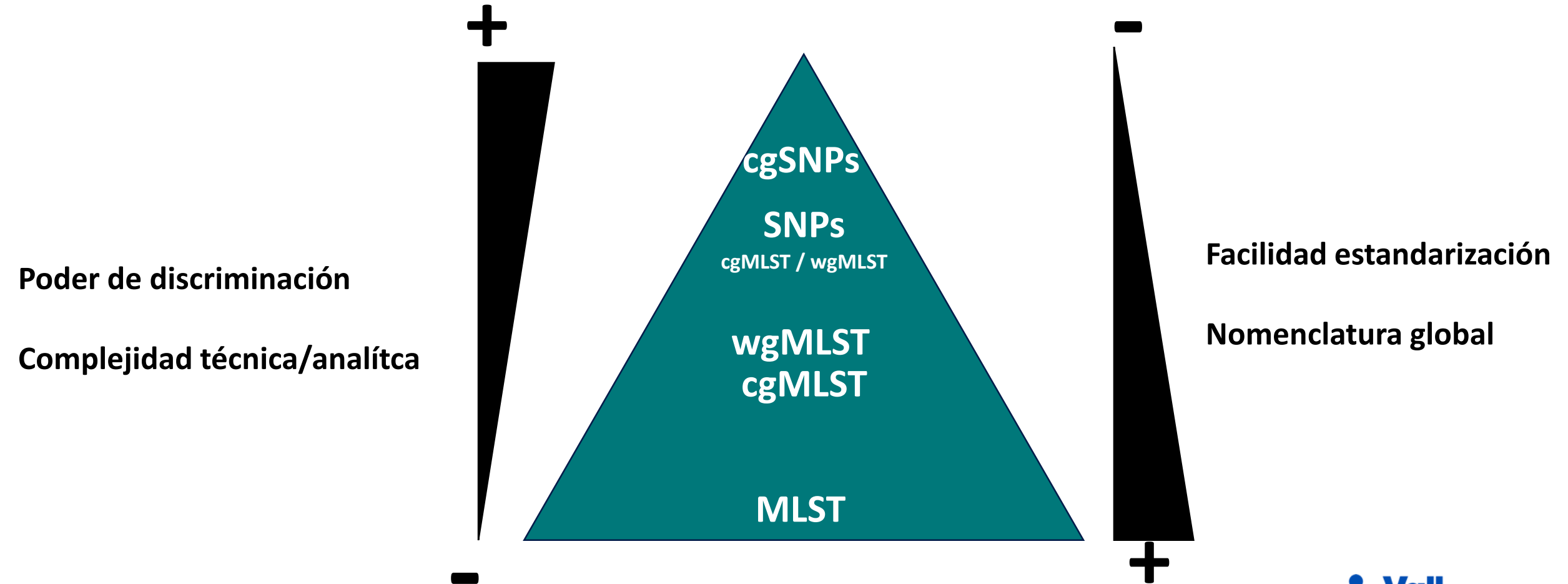


Árbol filogenético

Análisis de evolución bayesiana: Tasa evolutiva media de *B. pertussis* de $2,7 \times 10^{-7}$ sustituciones por sitio y año, lo que corresponde a 1,1 sustituciones por genoma y año.

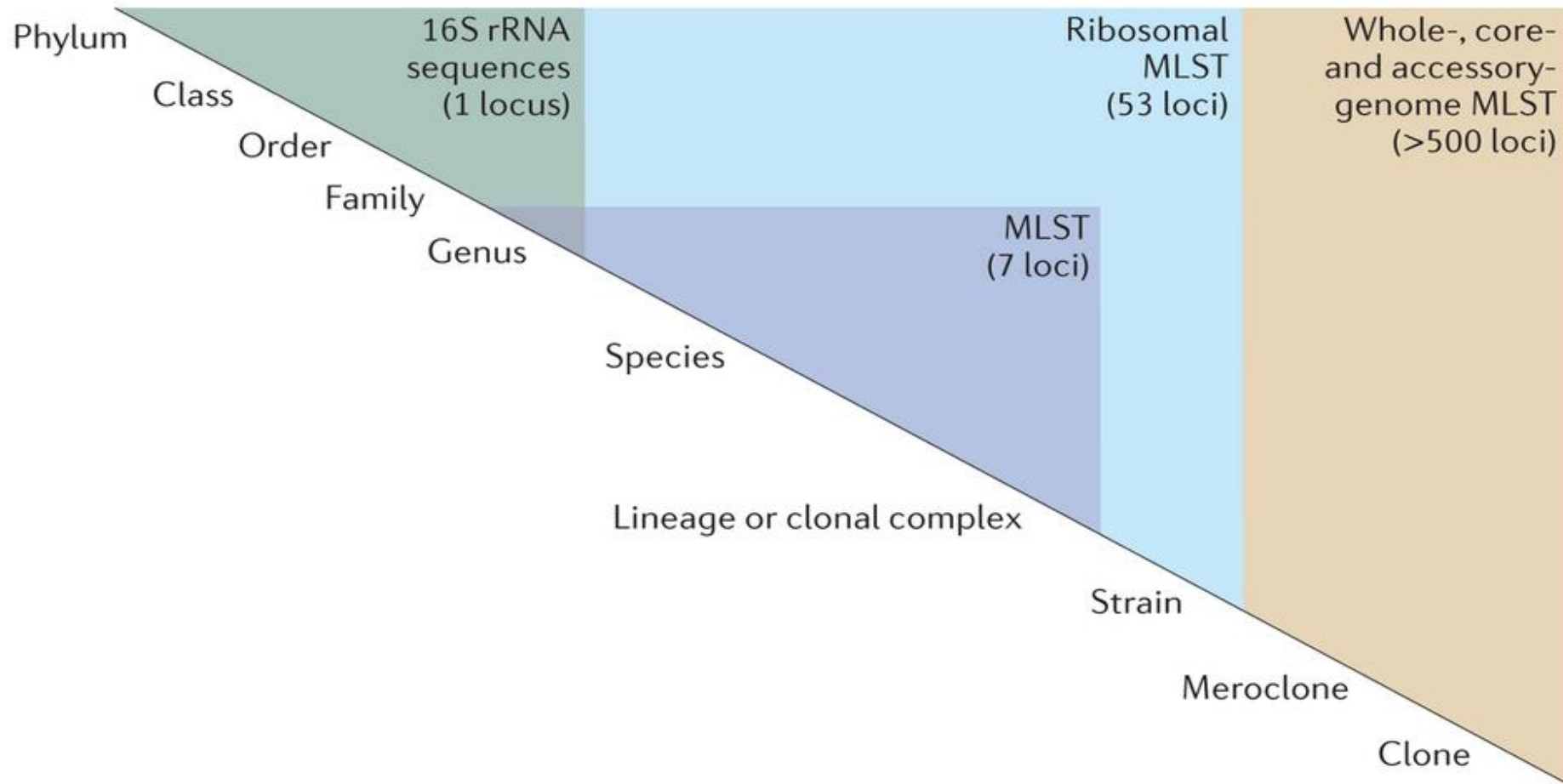
Aplicación de la secuenciación genómica en el control de enfermedades infecciosas

Pros/Cons de los distintos métodos de tipado molecular basados en WGS

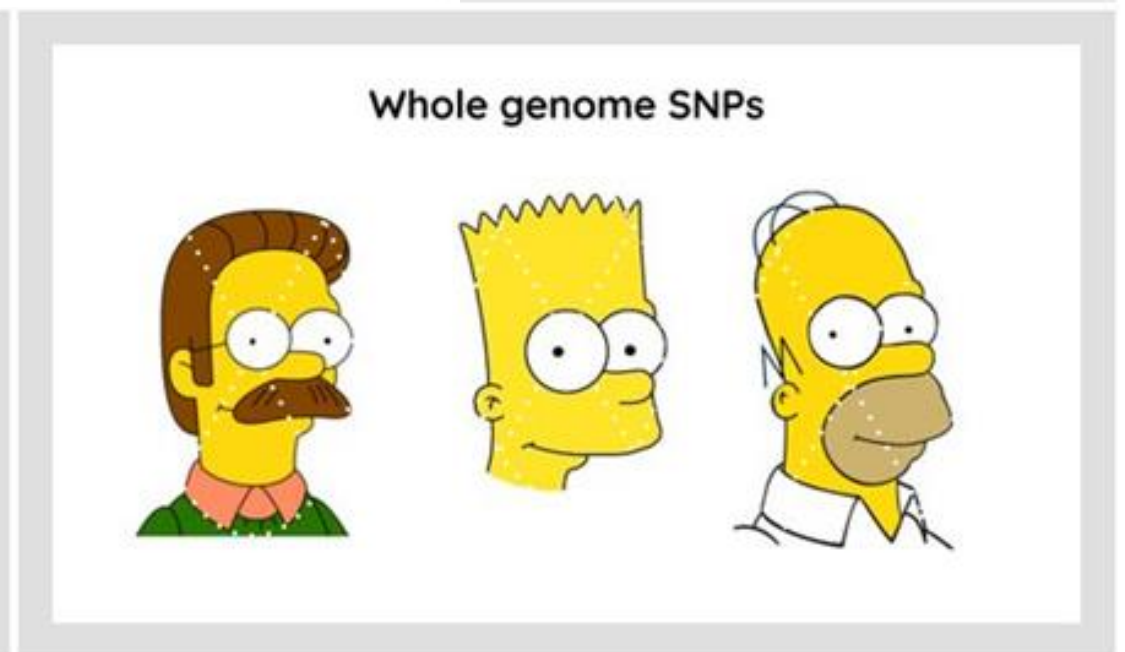
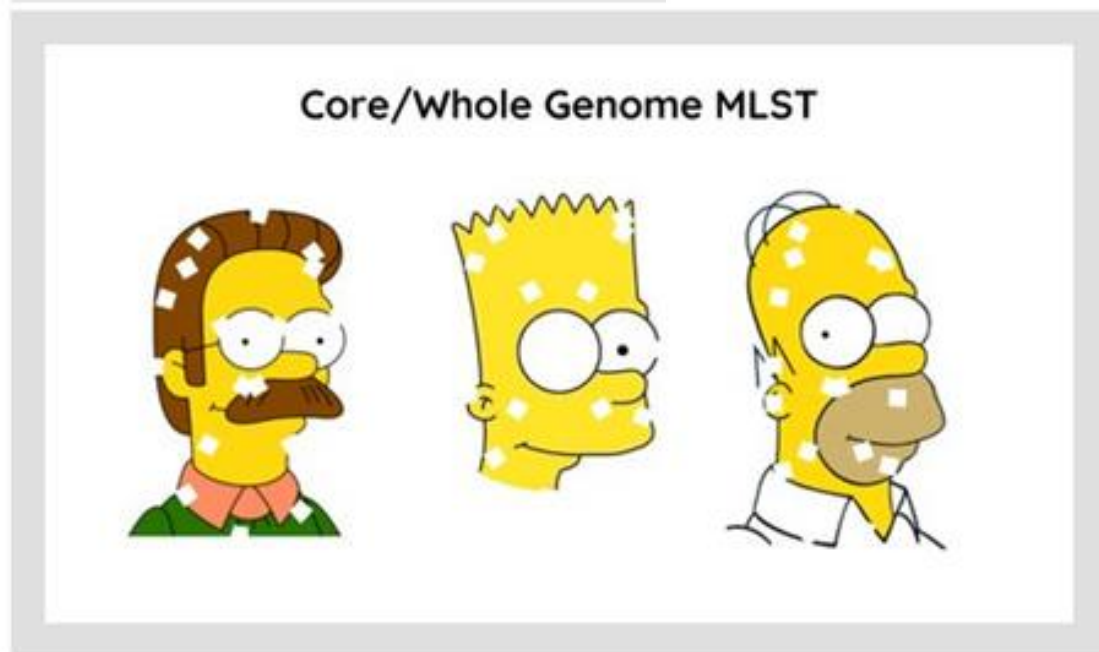
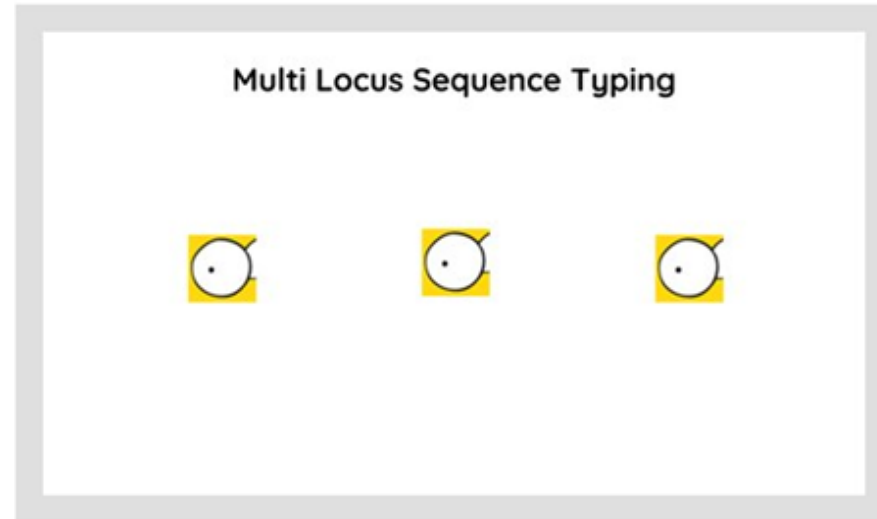


<https://www.ridom.de/seqsphere/cgmlst/>

Poder discriminativo de secuenciación



Resolución métodos de tipado molecular

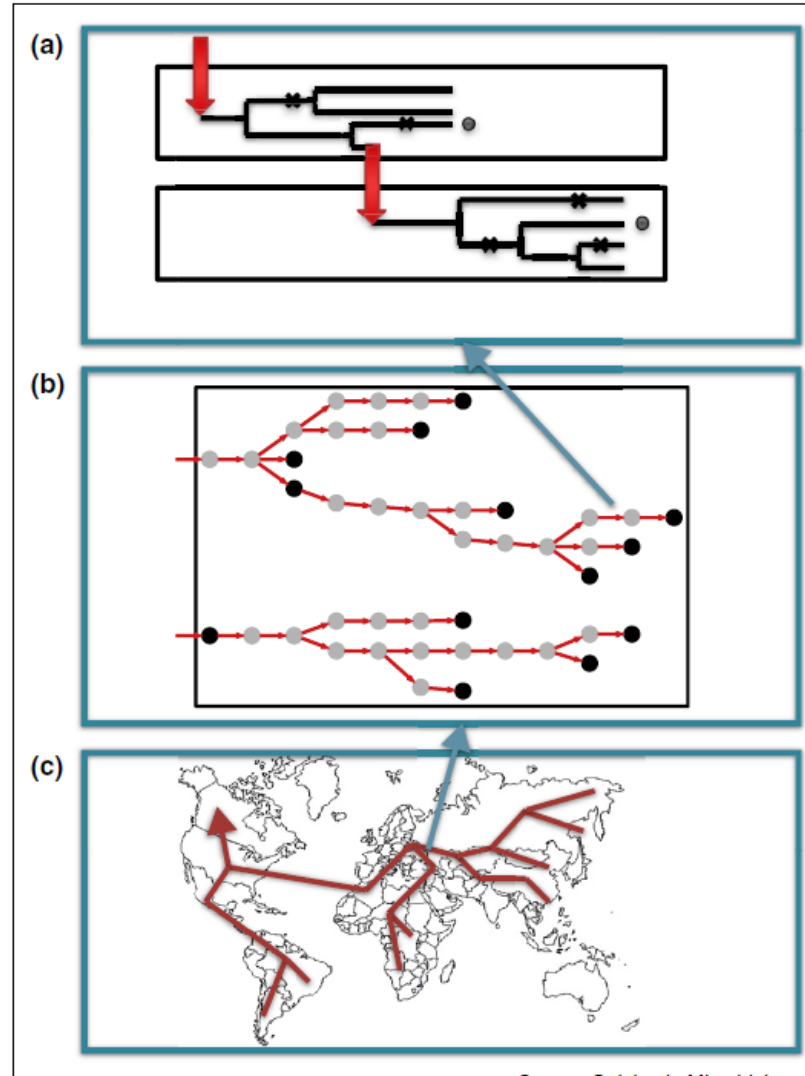


Aplicación de la secuenciación genómica en el control de enfermedades infecciosas

Transmisión directa

Transmisión local

Transmisión global



A considerar....

- Tiempo desde adquisición hasta la transmisión
- Tiempo hasta el aislamiento
- Duración del brote
- Tasas de mutación variables
- No vamos a poder disponer de aislados de todos los infectados/colonizados
- Reservorios y condiciones ambientales
- Uso de antimicrobianos...



SCIENTIFIC ADVICE

Expert opinion on whole genome sequencing for public health surveillance

Strategy to harness whole genome sequencing to strengthen EU outbreak investigations and public health surveillance



ECDC 2016



Whole genome sequencing (WGS)

*Replacing DNA restriction/MLVA typing techniques and classical single gene sequencing techniques (MLST) → WGS the **new reference microbial typing method in outbreak studies***

Is increasingly applied to national surveillance of infectious diseases in EU/EEA

*Maximal phylogenetic resolution for disclosing **transmission networks and tracing** infection sources*

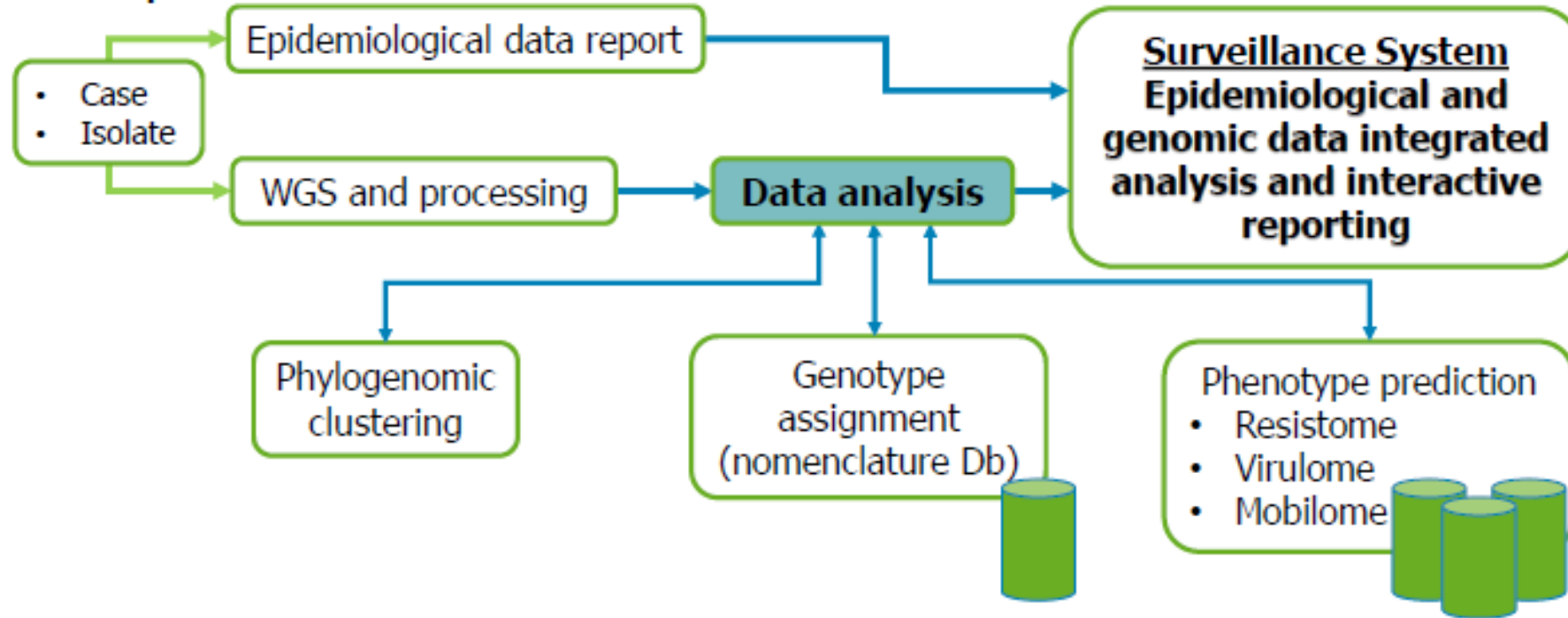
*Used for the purposes of **early outbreak detection** and detection of the emergence and **monitoring** of the **evolution/dynamics** of **multi-drug resistant** pathogen spread.*



Technical requirements for multi-centre sharing of genomic information for public health use

The main steps involved in the process of WGS data production, bioinformatics processing and analysis, and integration with linked epidemiological data for generic surveillance purposes, are summarised in Figure 2.

Figure 2. Process overview – WGS data production, analysis and integration with epidemiological data for public health surveillance





This roadmap Version 2.1, 2016–19 presents the recommended priority list of pathogens/diseases and technical implementation options for the medium-term integration of molecular/genomic typing into EU-level surveillance and epidemic preparedness. It is meant as a strategic framework to guide the consolidation of ECDC activities in relation to molecular typing of human pathogens and to focus the development of genomic-typing-enhanced surveillance over the next four years. It builds upon and synthesises evidence and the opinion of experts in Member States and at ECDC.

Table 1. Proposed list of priority pathogens, public health objectives and expected EU-level risk assessment output(s) prepared by ECDC disease programmes – September 2015

Pathogen	EU level risk assessment outputs by public health objective		
	Outbreak investigation	Control-oriented surveillance	Strategy-oriented surveillance
Carbapenemase-producing <i>Enterobacteriaceae</i> Meticillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	Not applicable	1. Detection/delineation of cross-region or cross-border dissemination of high-risk clones/plasmids between repeat surveys 2. Identification of high-prevalence geographical areas associated with spreading of specific high-risk clones 3. Detection and genotypic identification of high-risk clones/plasmids	1. Monitoring pluri-annual trends in the frequency of occurrence for particular genotypes in the population and identification of high-prevalence population groups. 2. Impact assessment of prevention and control programmes.
<i>Clostridium difficile</i>	Not applicable	1. Detection of the presence and/or emergence of strains with hypervirulence 2. Detection of the presence and/or emergence of strains with reduced susceptibility to intervention measures	1. Comparative burden of <i>C. difficile</i> infections (CDI) in participating countries 2. Trends in endemic CDI transmission
<i>Neisseria meningitidis</i>	RRA of national and international outbreaks	1. Detection, verification and description of national and international outbreaks 2. Identification and prevalence monitoring of vaccine escape variants, based on analysis of outer-membrane protein vaccine targets	1. Detection of emergence and spread of new virulent or epidemiologically successful sequence types. 2. Impact assessment of immunisation programmes.



TECHNICAL REPORT

ECDC strategic framework for the integration of molecular and genomic typing into European surveillance and multi-country outbreak investigations

2019–2021

www.ecdc.europa.eu

Based on the above-mentioned criteria and in consideration of the evidence and partner consultations, ECDC proposes in this strategic framework a number of priorities for 2019–2021. In general, Member States should receive support for the gradual use of sequence-based typing so they can participate in joint response and surveillance operations with EU/EEA Member States. **The following applications and pathogens (depending on preparedness for reporting of high-quality sequence data) are particularly relevant:**

- **Outbreak investigation objective; support to multi-country outbreak investigations through sequence-based typing:** *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, hepatitis A virus, *Legionella* spp., *Listeria monocytogenes*, multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* (MDR TB), *Neisseria meningitidis*, outbreaks of emerging multi- or extensively drug-resistant (MDR or XDR) bacteria, outbreaks of new pathogens or new modes of transmission of healthcare-associated or community pathogens, *Salmonella enterica*, Shiga-toxin producing *E. coli* and West Nile virus.
- **Control and strategy-oriented objectives; EU-wide sequence-based continuous surveillance:** influenza virus, *Listeria monocytogenes*, MDR TB, *Neisseria meningitidis*, *Salmonella enterica* and Shiga-toxin producing *E. coli*.
- **Strategy-oriented objective; sentinel surveillance or surveys:** antibiotic-resistant *Neisseria gonorrhoeae*, *Bordetella pertussis*, carbapenem- or colistin-resistant Enterobacteriaceae, carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*, HIV-transmitted drug resistance, and *Streptococcus pneumoniae*.

Pathogen	Action	Status
ECDC programme: Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated Infections (ARHAI)		
<i>Clostridium difficile</i>	Evaluation of EU surveillance feasibility and utility with PCR-ribotyping (2016–18)	■
	WGS: monitor progress of international validation of WGS-based typing	■
Carbapenem-/colistin-resistant Enterobacteriaceae	Business case based on EuSCAPE 2014 survey (2016)	■
	Development of protocol for WGS-based EU survey (2016)	■
	First WGS-based EU survey (2017–18)	■
Meticillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>spa</i> -typing pilots (Staphylococcus Reference Laboratory project)	■
	Development of genomic typing business case	■

Legend: Actions fully achieved (■), in progress (■), not implemented (■).

Albiger B, Europäisches Zentrum für die Prävention und die Kontrolle von Krankheiten. ECDC study protocol for genomic-based surveillance of carbapenem-resistant and/or colistin-resistant *Enterobacteriaceae* at the EU level [Internet]. 2017 Disponible en: <https://doi.org/10.2900/980499>

Clinical Implementation of Routine Whole-genome Sequencing for Hospital Infection Control of Multi-drug Resistant Pathogens

Brian M. Forde,¹ Haakon Bergh,² Thom Cuddihy,¹ Krispin Hajkovicz,³ Trish Hurst,³ E. Geoffrey Playford,⁴ Belinda C. Henderson,⁴ Naomi Runnegar,^{4,5} Julia Clark,^{6,7} Amy V. Jennison,⁸ Susan Moss,⁸ Anna Hume,^{2,3} Hugo Leroux,⁹ Scott A. Beatson,¹⁰ David L. Paterson,^{1,3} and Patrick N. A. Harris^{1,2,*}

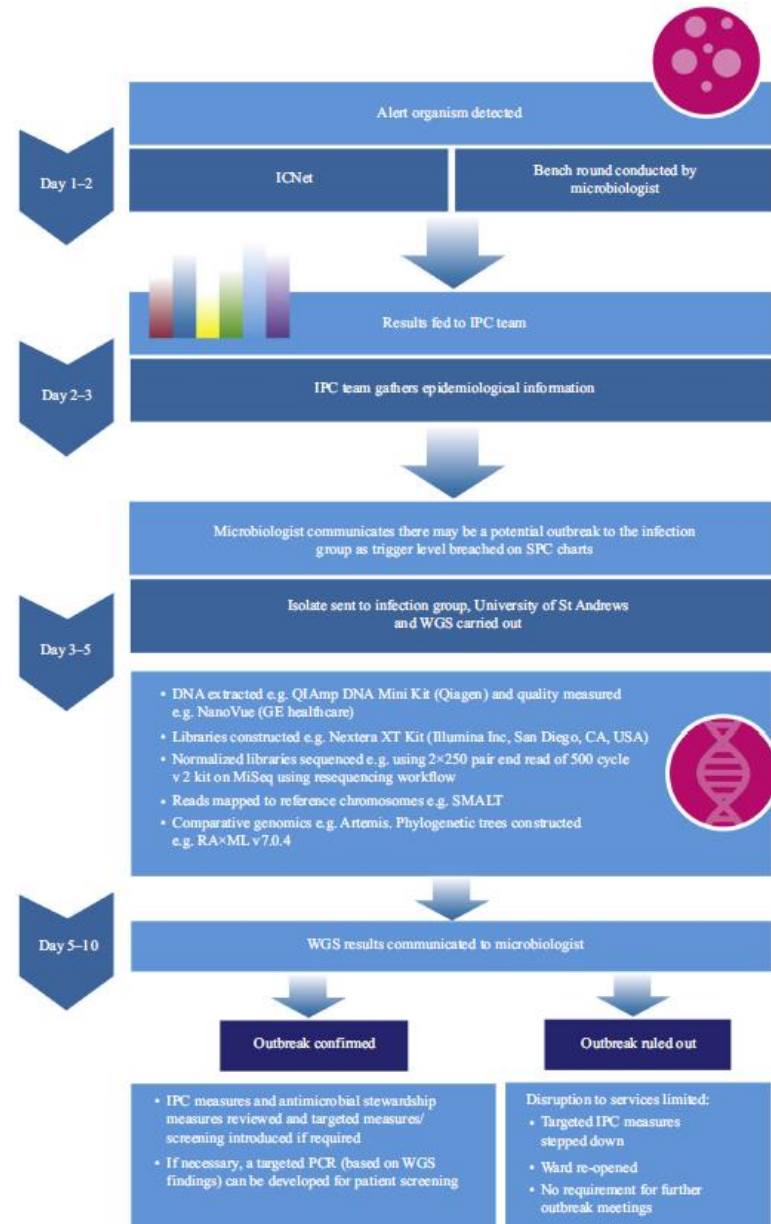
¹Faculty of Medicine, UQ Centre for Clinical Research, University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia; ²Central Microbiology, Pathology Queensland, Royal Brisbane & Women's Hospital, Brisbane, QLD, Australia; ³Infectious Diseases Unit, Royal Brisbane and Women's Hospital, Herston, QLD, Australia; ⁴Infection Management Services, Princess Alexandra Hospital, Metro South Hospital and Health Service, Brisbane, QLD, Australia; ⁵Faculty of Medicine, PA-Southside Clinical School, University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia; ⁶Infection Management and Prevention Service, Queensland Children's Hospital, Brisbane, QLD, Australia; ⁷Centre for Children's Health Research, Children's Health Queensland, Brisbane, Australia; ⁸Public Health Microbiology, Forensic and Scientific Services, Queensland Health, Brisbane, QLD, Australia; ⁹Australian e-Health Research Centre, CSIRO, Brisbane, QLD, Australia; and ¹⁰School of Chemistry and Molecular Biosciences, University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

Background. Prospective whole-genome sequencing (WGS)-based surveillance may be the optimal approach to rapidly identify transmission of multi-drug resistant (MDR) bacteria in the healthcare setting.

Methods. We prospectively collected methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), vancomycin-resistant enterococci (VRE), carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* (CRAB), extended-spectrum beta-lactamase (ESBL-E), and carbapenemase-producing Enterobacteriales (CPE) isolated from blood cultures, sterile sites, or screening specimens across three large tertiary referral hospitals (2 adult, 1 paediatric) in Brisbane, Australia. WGS was used to determine *in silico* multi-locus sequence typing (MLST) and resistance gene profiling via a bespoke genomic analysis pipeline. Putative transmission events were identified by comparison of core genome single nucleotide polymorphisms (SNPs). Relevant clinical meta-data were combined with genomic analyses via customised automation, collated into hospital-specific reports regularly distributed to infection control teams.



10d (posib. actual de 2-5d e incluso de horas con Oxford Nanopore)



IPC, infection prevention and control; SPC, statistical process control; PCR, polymerase chain reaction.

Ventajas de WGS como método de tipado molecular



1. Resolución óptima (secuencia genómica casi completa)

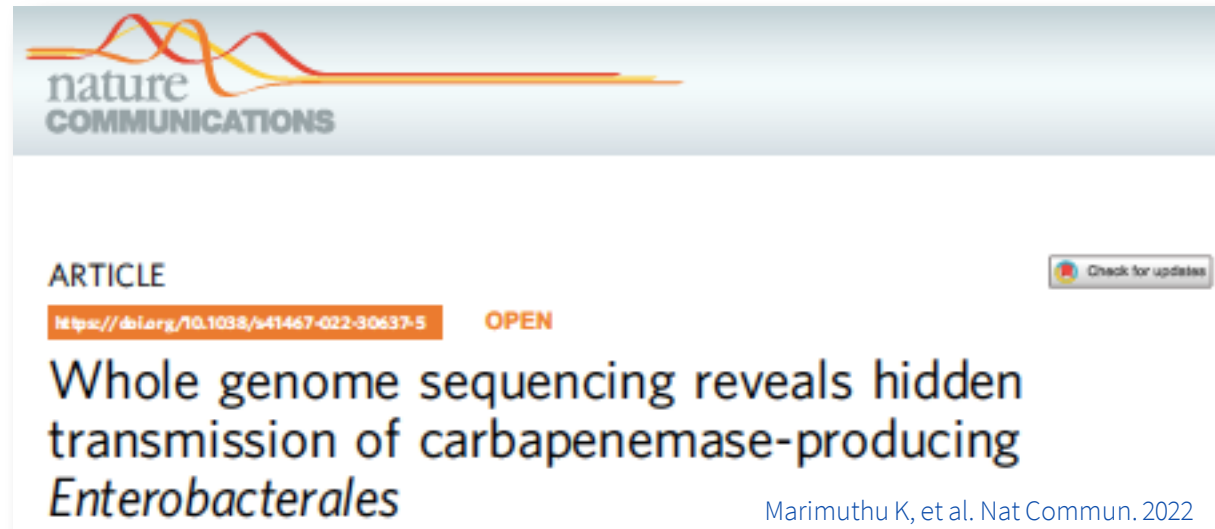
-Similitud de secuencias intergenómicas

-Inferencia de los linajes filogenéticos más probables entre aislados

-Inferencia de la dirección y la vía de transmisión del patógeno, desde fuentes y reservorios ambientales, animales o humanos.

2. Predicción *in silico* del fenotipo y, en particular, de los mecanismos de resistencia antimicrobiana adquirida, los determinantes de patogenicidad y virulencia, así como los correlatos de aptitud epidemiológica/ecológica asociados a la propagación epidémica, también denominados «clones de alto riesgo».

Ventajas de WGS como método de tipado molecular

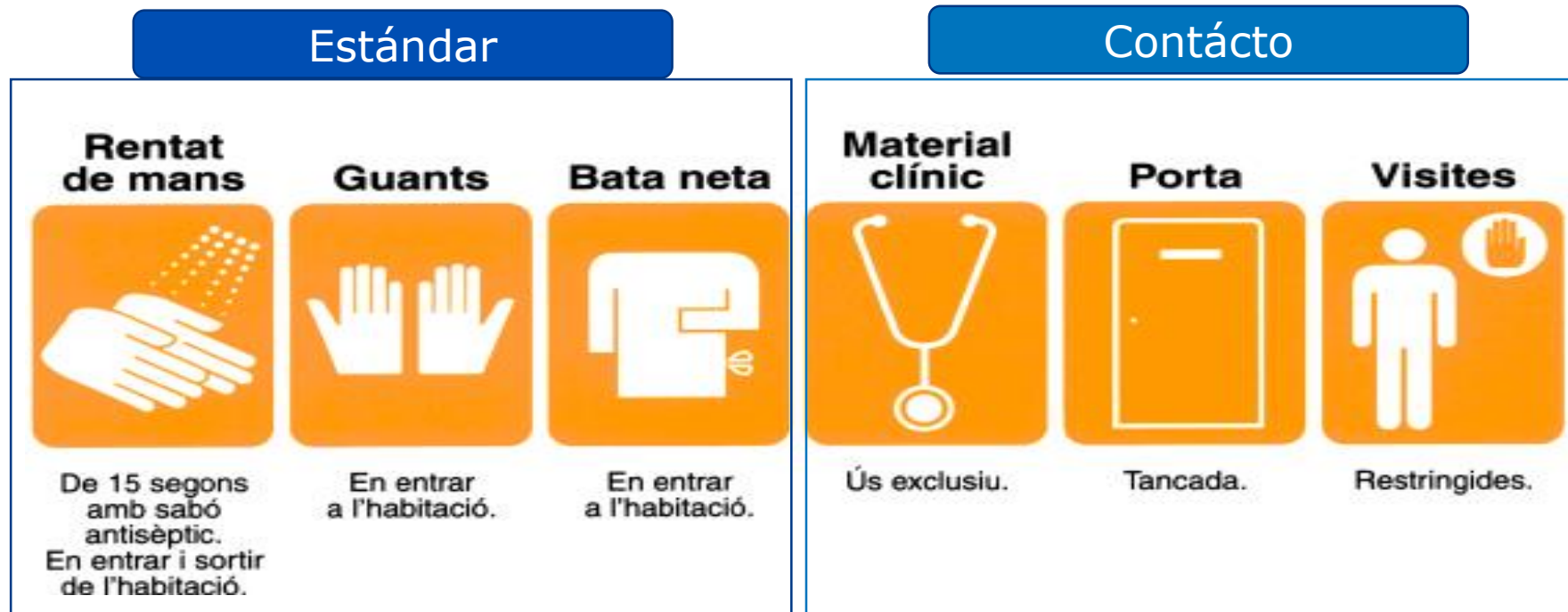


1. Estudio de cohorte retrospectivo durante 4,7 años de todos los hospitales públicos en Singapur (análisis de 779 pacientes que adquirieron CPE). Cultivos clínicos o de vigilancia
2. 42.0% cumplió con los criterios de transmisión clonal (pac. a pac.); el 44,8 % los criterios de transmisión mediada por plásmidos (sin superposición temporal en el período de admisión de los pacientes) y el 13,2 % no estaban vinculados

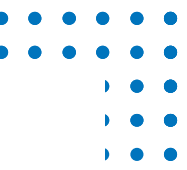
3. Sólo las presuntas transmisiones clonales asociadas con el contacto directo disminuyeron al aplicar medidas de prevención agresivas
4. La supuesta transmisión mediada por plásmidos (contacto indirecto) no varía por lo que se requieren nuevas medidas de actuación que aborden posibles reservorios ocultos (ambientales, trabajadores, equipamiento e instrumentos hospitalarios y transmisión comunitaria)
5. Determinar y comprender las rutas predominantes de transmisión es esencial para el control de la diseminación

Prevenção de la transmisión de las IRAS

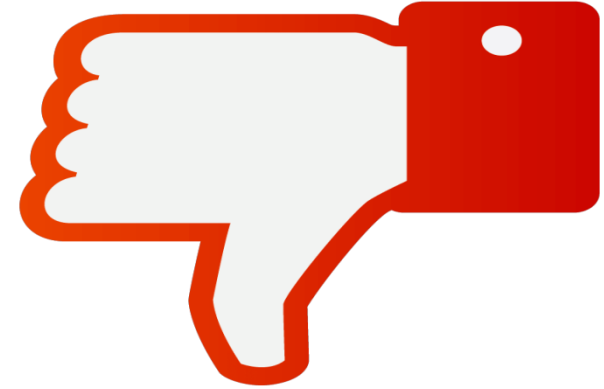
Las medidas preventivas usadas en el control de la diseminación de bacterias multirresistentes (BMR) en pacientes hospitalizados se basa en la instauración de **medidas de precaución estándar** y **de contacto** sin establecer diferencias en función del microorganismo



Aislamiento de contacto

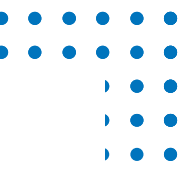


Consecuencias:



- Menor calidad de la atención del paciente
- Impacto negativo en su recuperación
- Mala percepción por paciente y familiares
- El bloqueo de camas en aquellos centros que no disponen de habitaciones individuales
- Aumento del coste de hospitalización

Aislamiento de contacto



Pero....

En condiciones de **endemia** no existe evidencia de que la aplicación de estas medidas aporte beneficios y por tanto siga siendo necesaria



70+
anys

¿ALGO ESTÁ CAMBIANDO EN LAS POLÍTICAS DE CONTROL DE INFECCIÓN POR BMR?

Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 39 (2021) 425–428



Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Editorial

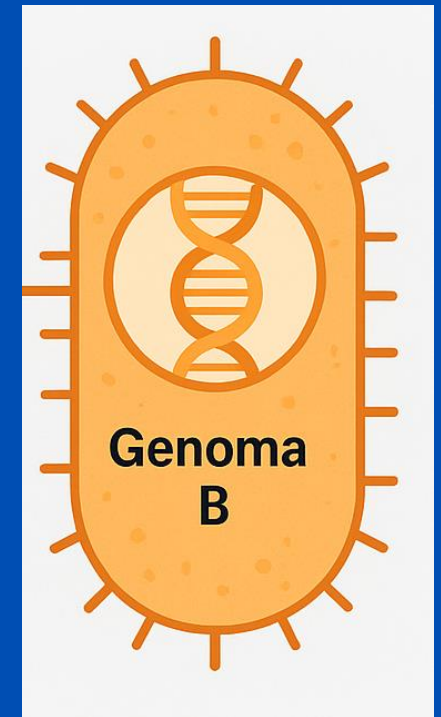
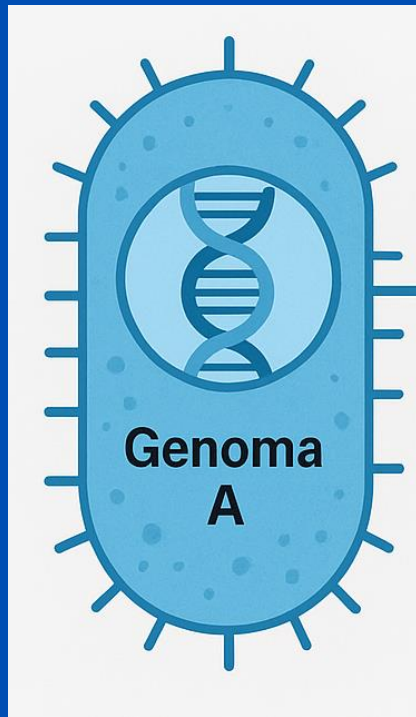
Isolation strategy for controlling the spread of multidrug-resistant organisms: Is this still an essential option in hospitals?



Aislamiento de contacto en el control de la transmisión de bacterias multirresistentes: ¿sigue siendo esta una estrategia necesaria en los hospitales?

1. Mantenimiento de precauciones universales en todos los pacientes independientemente del estado de colonización / infección. Adopción de medidas de control de reservorios ambientales
2. Conocimiento situación epidemiológica real
3. Investigar origen del microorganismo y cuestionar la eficacia de las medidas que se adoptan “por tradición” en el control de la infección
4. Mejorar las herramientas de vigilancia y detección

Identificación de puntos de corte de distancia genética para inferir posibles transmisiones de BMR



Aplicación de la secuenciación genómica en el control de enfermedades infecciosas

Punto de corte:

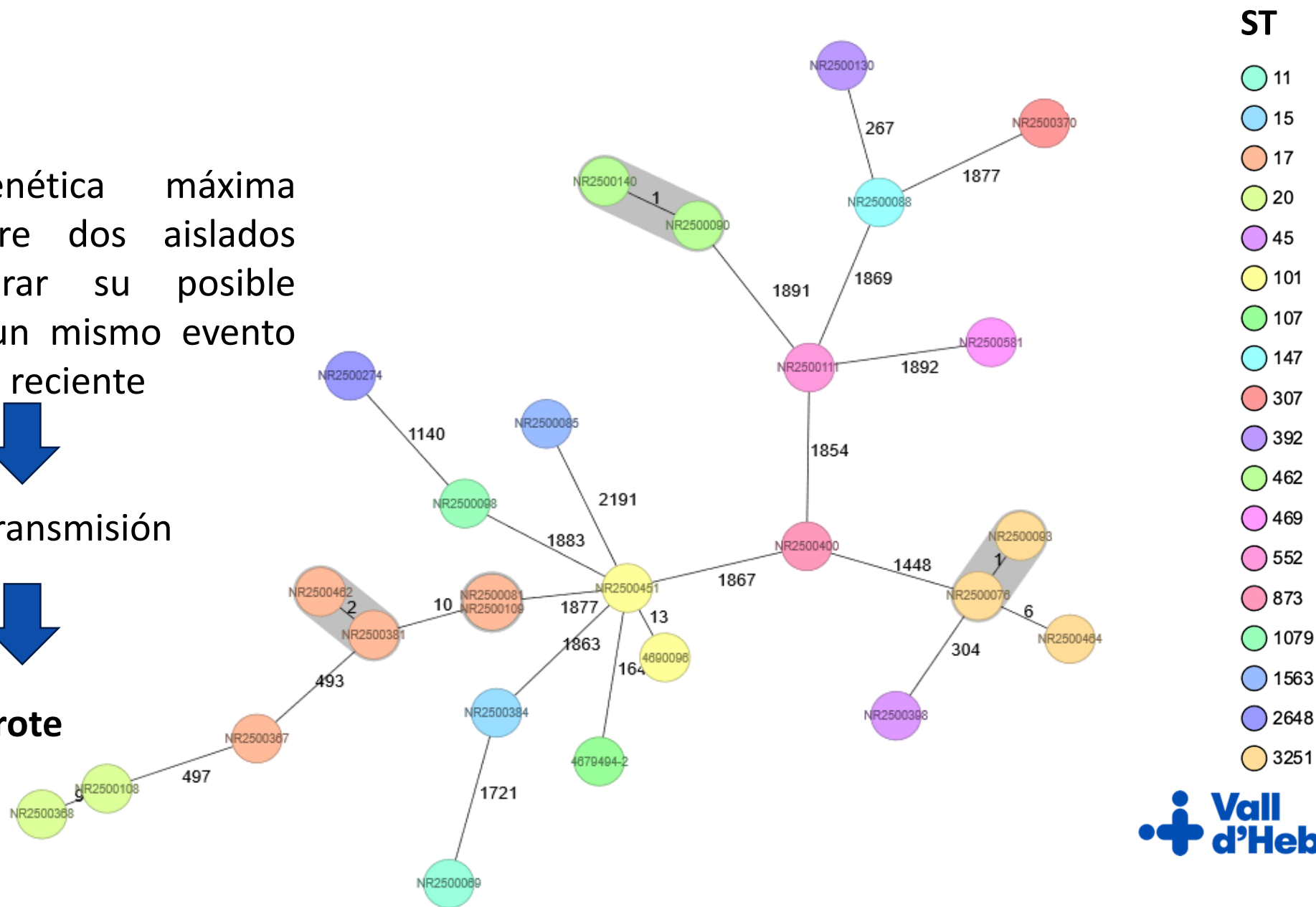
Distancia genética máxima existente entre dos aislados para considerar su posible relación con un mismo evento de transmisión reciente



Clúster de transmisión



Brote



Puntos de corte para identificar clústeres de transmisión de BMR

Real-Time Genome Sequencing of Resistant Bacteria Provides Precision Infection Control in an Institutional Setting

Alexander Mellmann,^a Stefan Bletz,^a Thomas Böking,^a Frank Kipp,^{a*} Karsten Becker,^b Anja Schultes,^c Karola Prior,^c Dag Harmsen^c
Institute of Hygiene, University Hospital Muenster, Muenster, Germany^a; Institute of Medical Microbiology, University Hospital Muenster, Muenster, Germany^b;
Department of Periodontology and Restorative Dentistry, University Hospital Muenster, Muenster, Germany^c

The increasing prevalence of multidrug-resistant (MDR) bacteria is a serious global challenge. Here, we studied prospectively whether bacterial whole-genome sequencing (WGS) for real-time MDR surveillance is technical feasible, returns actionable results, and is cost-beneficial. WGS was applied to all MDR isolates of four species (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [MRSA], vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, MDR *Escherichia coli*, and MDR *Pseudomonas aeruginosa*) at the University Hospital Muenster, Muenster, Germany, a tertiary care hospital with 1,450 beds, during two 6-month intervals. Turnaround times (TAT) were measured, and total costs for sequencing per isolate were calculated. After cancelling prior policies of preemptive isolation of patients harboring certain Gram-negative MDR bacteria in risk areas, the second interval was conducted. During interval I, 645 bacterial isolates were sequenced. From culture, TATs ranged from 4.4 to 5.3 days, and costs were €202.49 per isolate. During interval II, 550 bacterial isolates were sequenced. Hospital-wide transmission rates of the two most common species (MRSA and MDR *E. coli*) were low during interval I (5.8% and 2.3%, respectively) and interval II (4.3% and 5.0%, respectively). Cancellation of isolation of patients infected with non-pan-resistant MDR *E. coli* in risk wards did not increase transmission. Comparing sequencing costs with avoided costs mostly due to fewer blocked beds during interval II, we saved in excess of €200,000. Real-time microbial WGS in our institution was feasible, produced precise actionable results, helped us to monitor transmission rates that remained low following a modification in isolation procedures, and ultimately saved costs.

Mellmann, A et al. Journal of Clinical Microbiology. 2016

- Uso de cgMLST para identificar clústeres de transmisión:
 - *E. coli*: ≤10 alelos
 - *S. aureus*: ≤6 alelos
- Análisis de los aislados por cgMLST y determinación del punto de corte
- Análisis bioinformático mediante Ridom SeqSphere



Proyecto: “Aplicación de la secuenciación de nueva generación en la vigilancia de la infección relacionada con la asistencia sanitaria (IRAS) por bacterias multirresistentes”



Proyecto IRAS-MR SEIMC 2017-19



UNIÓN EUROPEA
Fondo Europeo de Desarrollo Regional

PI18/00954

PI21/01786

"Una manera de hacer Europa"



Utilidad técnicas WSG en el control de las IRAS

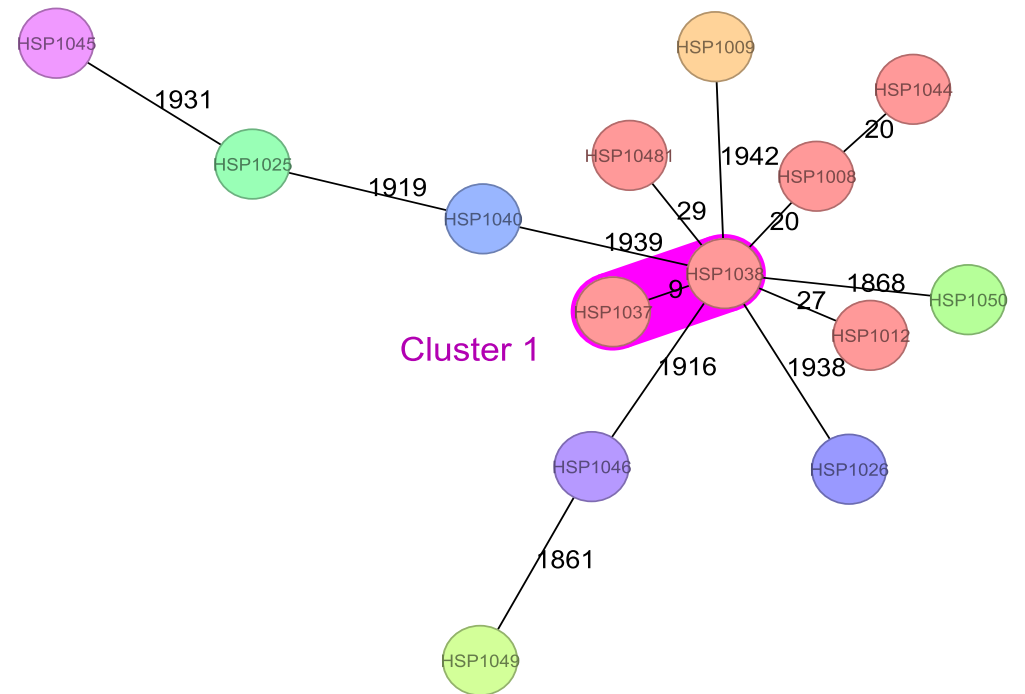
Permiten conocer el **origen y las vías de transmisión** de un microorganismo concreto

Hipótesis:

-La WGS permite **monitorizar la transmisión de BMR** en el ámbito hospitalario

Objetivos principales:

- Optimizar la política de control de las IRAS**
- Evitar la aplicación sistemática de precauciones de contacto y **repercutir positivamente en la recuperación del paciente y en la reducción de los costes de la hospitalización**



Objetivos secundarios

1. Determinar, mediante la caracterización de los clones circulantes por WGS, la **tasa basal de transmisión de BMR** (*E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEE o pAmpC, SARM y *P. aeruginosa* XDR) **en unidades de bajo riesgo**, aplicando las **precauciones estándar y las precauciones de contacto** para el control de la infección nosocomial.

*Se excluyen los aislados productores de EPC por la grave repercusión que podría suponer el que no se demostrase la hipótesis inicial de trabajo.

2. Determinar, mediante la caracterización de los clones circulantes por WGS, si la **tasa de transmisión de BMR** en las mismas unidades planteadas en el Objetivo 1 **se mantiene**, aplicando **únicamente las precauciones estándar** de control de la infección nosocomial.

3. Hacer un **estudio del coste del uso de la WGS para el control de la infección nosocomial** causada por BMR que evalúe su utilidad en la implementación en la rutina asistencial de los centros sanitarios.

Diseño del estudio inicial

FASE 1: Fase observacional (12 meses)

- Determinar **la tasa de transmisión** aplicando las precauciones de control de las IRAS que en ese momento se utilicen en las instituciones participantes, de:
 - E. coli*, *K. pneumoniae* BLEE o pAmpC, SARM, *P. aeruginosa* XDR
- **Evaluar riesgo de transmisión de bacterias MR:**
 - Estudios de contactos a pacientes ingresados en la misma unidad que casos índice**
 - Habitación compartida o mismo equipo de enfermería
 - Controles a la detección del caso y semanal
- **Secuenciación de genomas completos** de cepas obtenidas de muestras clínicas y de vigilancia

Diseño del estudio inicial

FASE 2: Fase intervención (12 meses)

- Se dejan de aplicar precauciones de contacto
- Se hace refuerzo formativo y de seguimiento para la implementación de las medidas de precaución estándar
- Monitorización **de transmisión de clones** aplicando las nuevas medidas
- **Evaluación de riesgo de transmisión:** Estudios de contacto de pacientes de la misma habitación
- **Secuenciación de genomas completos** de cepas obtenidas de muestras clínicas y de vigilancia
- **Estudio del coste** del uso de la WGS para el control de la infección nosocomial causada por BMR que evalúe su utilidad en la implementación en la rutina asistencial de los centros sanitarios

Limitaciones

1. Necesidad de interrupción del estudio si se detecta un aumento significativo de la transmisión de microorganismos MR como consecuencia de dejar de aplicar las medidas de prevención de contacto en la fase II
2. Riesgo de no detectar diferencias porque no se diera la incidencia de transmisión necesaria en el tiempo establecido



Aislados estudiados

1. FASE 1:

- HVH: 1 noviembre 2017 a 31 enero 2019
Med. Interna, Infecciosas, Geriatría (90 camas)
- HSP: 1 enero 2018 a 31 enero 2019
Med. Interna, Geriatría, Digestivo (70 camas)
- PSM: 1 noviembre 2017 a 31 enero 2019
Med. Interna, Geriatría y Digestivo (70 camas)

FASE I	HSP	HVH	PSM	TOTAL
<i>E. coli</i>	40	43	14	97
<i>K. pneumoniae</i>	27	24	23	74
<i>P. aeruginosa</i> XDR	21	10	25	56
MRSA	8	29	32	69
TOTAL	96	106	94	296

2. FASE 2:

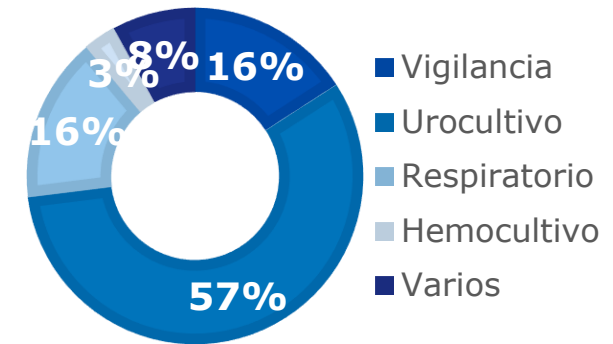
- HVH: 15 mayo 2019 a 9 de febrero 2020
- HSP: 15 febrero 2019 a 25 febrero 2020

FASE II	HSP	HVH	TOTAL
<i>E. coli</i>	27	27	54
<i>K. pneumoniae</i>	19	64	83
<i>P. aeruginosa</i> XDR	9	9	18
MRSA	15	40	55
TOTAL	70	140	210

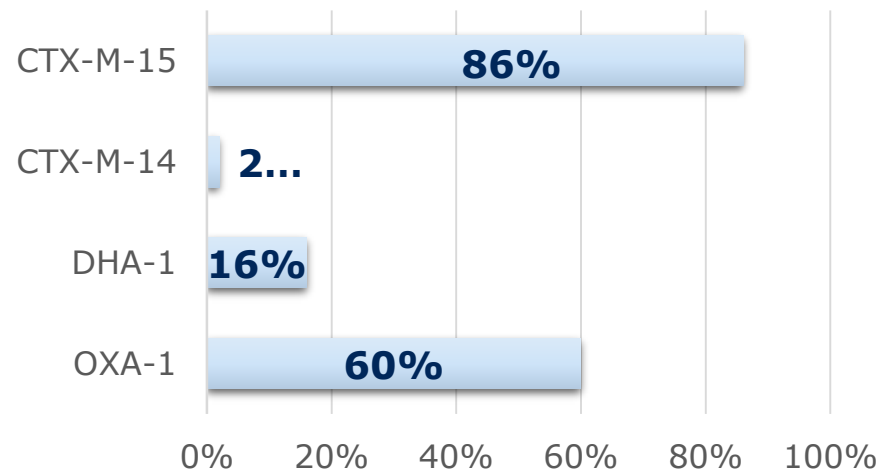
K. pneumoniae todos los centros

- 74 aislados recogidos en los tres centros
- BLEE y AmpC plasmídicas
- cgMLST: 2358 genes

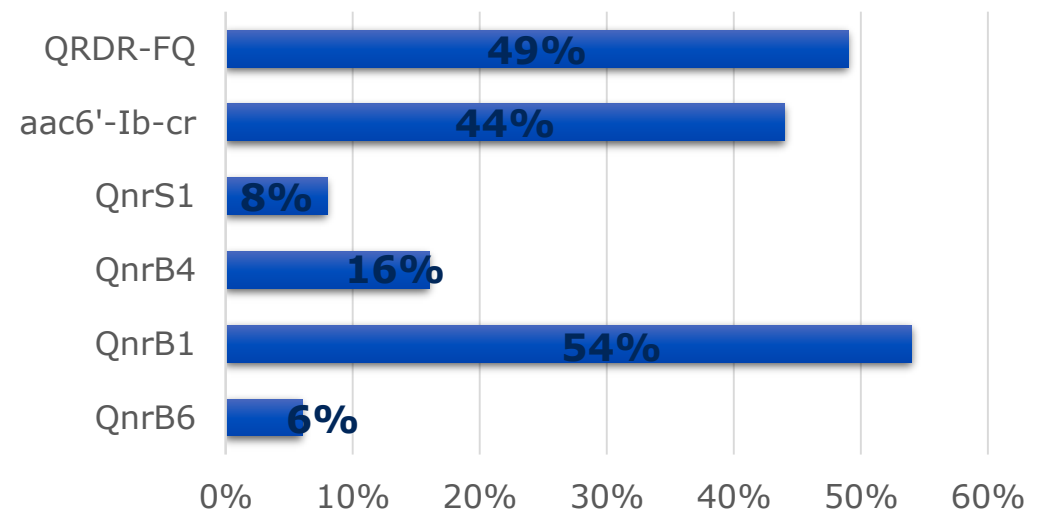
TIPO DE MUESTRA



Betalactamasas



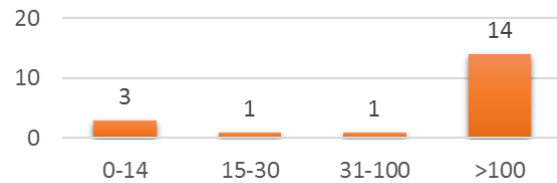
Resistencia a quinolonas



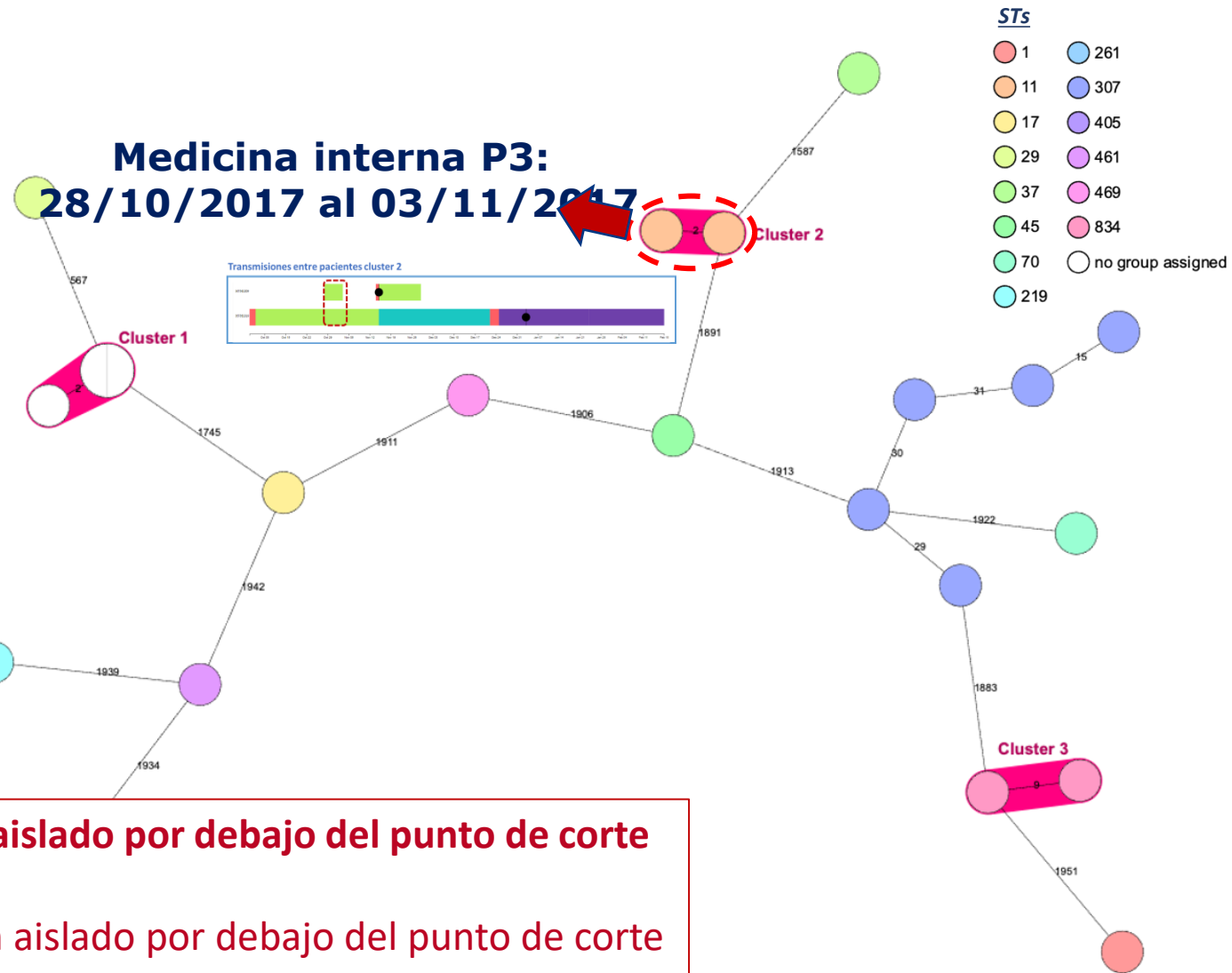
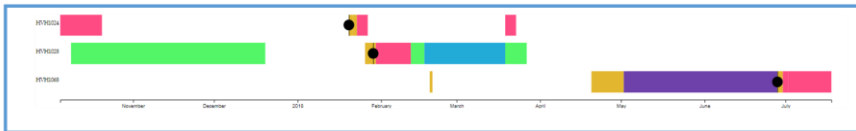
K. pneumoniae: transmisiones H. Vall Hebron (FI)

K. pneumoniae resistente a cefalosporinas de 3^a generación
 Periodo: Nov 2017-Enero 2019
 Metodología: cgMLST (2358 genes)
 Total aislados: 24

Distribución del nº de genes de diferencia entre aislados



Transmisiones entre pacientes cluster 1



1 relación entre pares de pacientes que compartían aislado por debajo del punto de corte entre los que hay vinculación epidemiológica.
3 relaciones entre pares de pacientes que compartían aislado por debajo del punto de corte entre los que NO hay vinculación epidem.
0 Transmisión paciente control

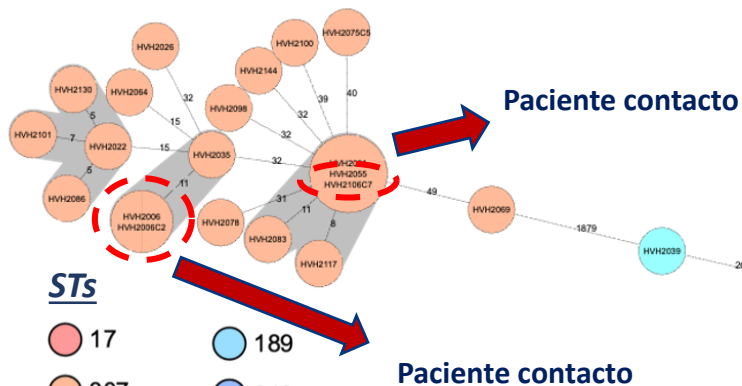
K. pneumoniae: transmisiones H. Vall Hebron (FII)

K. pneumoniae resistente a cefalosporinas de 3ª generación

Periodo: Mayo 2019-Febrero 2020

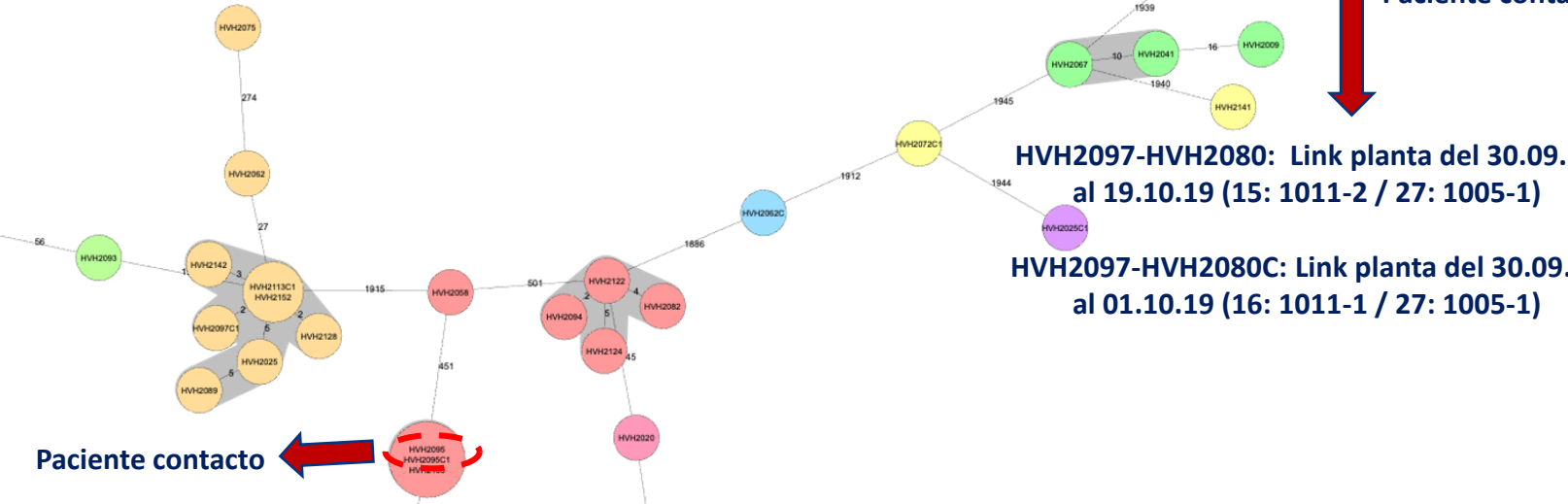
Metodología: cgMLST (2358 genes)

Total aislados: 64



Punto de corte para considerar misma cadena de transmisión ≤ 14 alelos

- STs**
- 17
 - 307
 - 39
 - unknown
 - 15
 - 392
 - 405
 - 147
 - 189
 - 219
 - 2900
 - 323
 - 34
 - 571
 - 636



Coincidencia del 10 al 20.09.19 Hab. 325

Link planta del 19 al 22.03.19 (11: 1021-1 y 1017-1 / 27: 1023-2, 1017-1*)

HVH2097-HVH2080: Link planta del 30.09.19 al 19.10.19 (15: 1011-2 / 27: 1005-1)

HVH2097-HVH2080C: Link planta del 30.09.19 al 01.10.19 (16: 1011-1 / 27: 1005-1)

8 relación entre pares de pacientes que compartían aislado por debajo del punto de corte entre los que hay vinculación epidemiológica.
 55 relaciones entre pares de pacientes que compartían aislado por debajo del punto de corte entre los que NO hay vinculación epidem.
 3 Transmisión paciente control

Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

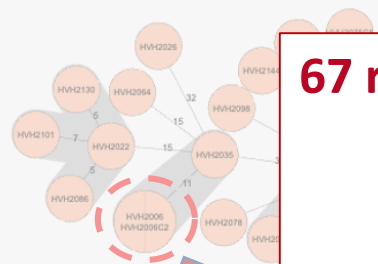
Implementación WGS para el estudio transmisiones *K. pneumoniae* RC3G H. Vall Hebron

K. pneumoniae resistente a cefalosporinas de 3ª generación

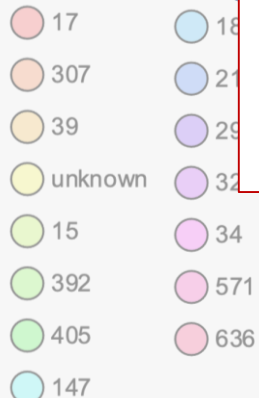
Metodología: cgMLST

Total aislados: 64

Periodo: Mayo 2019-Febrero 2020



STs



67 relaciones entre pares de aislados por debajo del punto de corte

- 12 relaciones entre pacientes en los que **SI** había vinculación epidemiológica
- 55 relaciones entre pacientes que **NO** existía vinculación epidemiológica

82% ALERTAS SIN VÍNCULO EPIDEMIOLÓGICO

Punto de corte para considerar misma cadena de transmisión ≤ 14 alelos

Coincidencia del 10 al 20.09.19 Hab. 325

Link planta del 19 al 22.03.19 (11: 1021-1 y 1017-1 / 27: 1023-2, 1017-1*)

Paciente contacto

Link planta del 30.09.19 (11: 1011-2 / 27: 1005-1)

Link planta del 30.09.19 (11: 1011-1 / 27: 1005-1)

Paciente contacto

Dificultad en La aplicación del punto de corte

- Comparación de prevalencia de *E.coli* y *K. pneumoniae* entre FASE1 y FASE2.

	% Ec BLEE	% Kp BLEE
F1	20,1%	39,0%
F2	19,8%	48,6%

Ligero aumento pero sin diferencias significativas.

Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

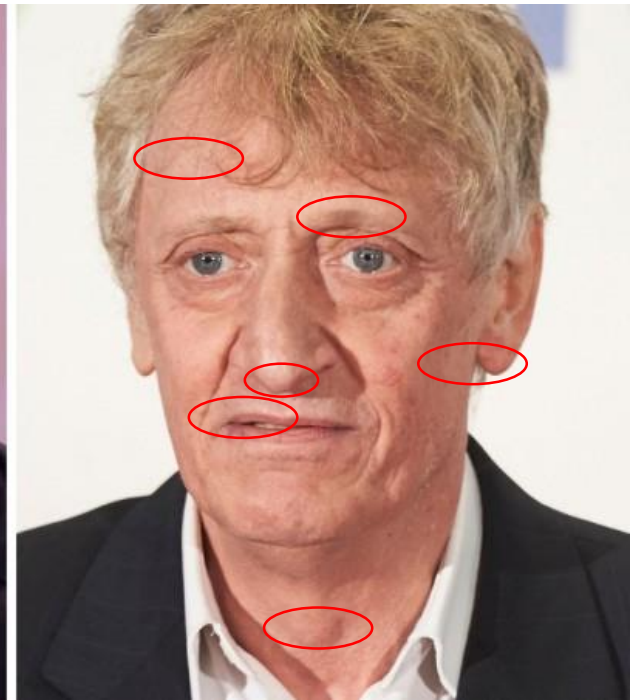
Algunas cuestiones que nos planteamos...

¿Son realmente clones? ¿o son parecidos razonables?

¿Cuán diferente deben ser los aislados para considerar que pertenecen a una misma cadena/clúster de transmisión?

¿Cómo podemos cuantificar esas diferencias?

¿Qué metodologías podemos implementar en la rutina asistencial?



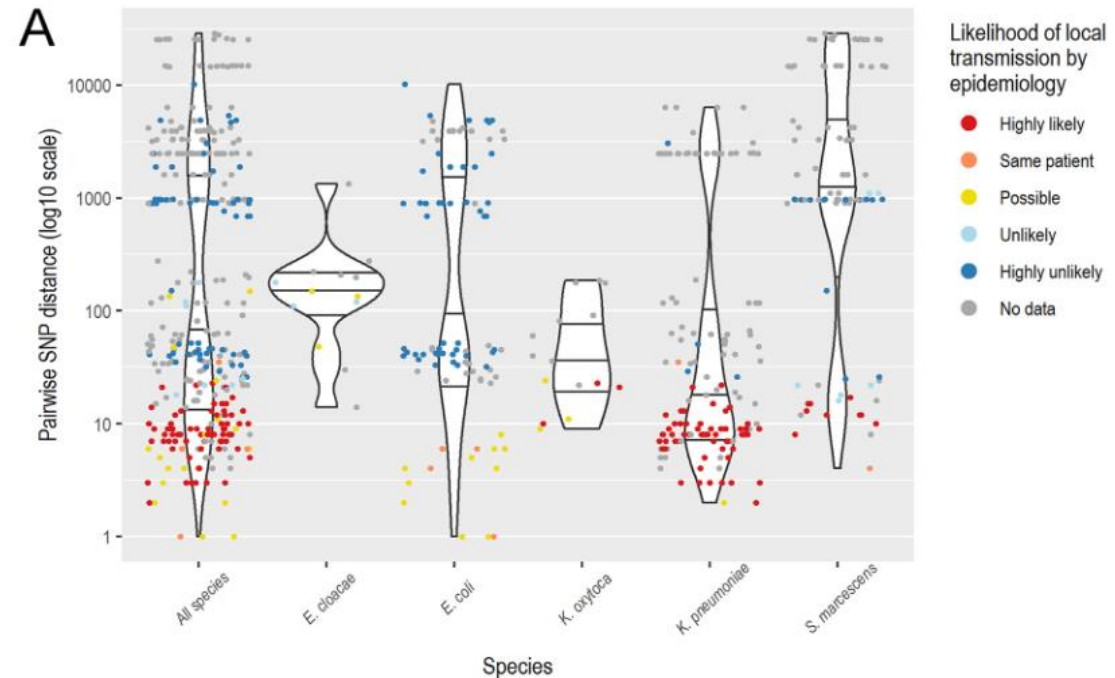
Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Nueva aproximación para identificación de clústeres de transmisión

- Basada en el trabajo de Sherry NL et al. 2019
- Definición de un punto de corte propio con la observación de la distancia genética entre grupos determinados según la evidencia epidemiológica
- Análisis de SNPs

Genomics for Molecular Epidemiology and Detecting Transmission of Carbapenemase-Producing *Enterobacterales* in Victoria, Australia, 2012 to 2016

Norelle L. Sherry,^{a,b} Courtney R. Lane,^{a,c} Jason C. Kwong,^{a,b,d} Mark Schultz,^{a,d} Michelle Sait,^a Kerrie Stevens,^a Susan Ballard,^a Anders Gonçalves da Silva,^{a,d} Torsten Seemann,^{a,d} Claire L. Gorrie,^{a,d} Timothy P. Stinear,^d Deborah A. Williamson,^{a,d} Judith Brett,^e Annaliese van Diemen,^c Marion Easton,^c Benjamin P. Howden^{a,b,d}



Pairwise SNP distances by species and epidemiologic data. (A) Pairwise SNP distances (log₁₀ scale) plotted by species. Points are colored by the likelihood of local CPE transmission as assessed by epidemiology. SNP, single nucleotide polymorphisms (core genome).

Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Nueva aproximación para identificación de clústeres de transmisión

Metodología:

- Análisis comparativo de SNPs
- Transmisión:
 - Basado en el número de SNPs detectado en aislados de un mismo paciente y en simulaciones estadísticas*
 - Estudio de relaciones hasta 6 meses desde el primer aislado estudiado
- Umbral 25 wgSNPs o 15 cgSNPs
- Categorías en función de la probabilidad epidemiológica: Vínculo fuerte (contacto probado) y débil (sala y comunidad)
- 1465 pacientes: 1006 (69%) con 1 aislado y 459 (31%) con >1 aislado
- 1276 aislados de diferentes localizaciones

*SNP cutoff = (95th percentile of the initial cloud of diversity) + (expected mutation accumulation over 6 months × 2)

Definition of a genetic relatedness cutoff to exclude recent transmission of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a genomic epidemiology analysis

Francesc Coll*, Kathy E Raven*, Gwenan M Knight*, Beth Blane, Ewan M Harrison, Danielle Leek, David A Enoch, Nicholas M Brown, Julian Parkhill, Sharon J Peacock

The Lancet Microbe. 2020

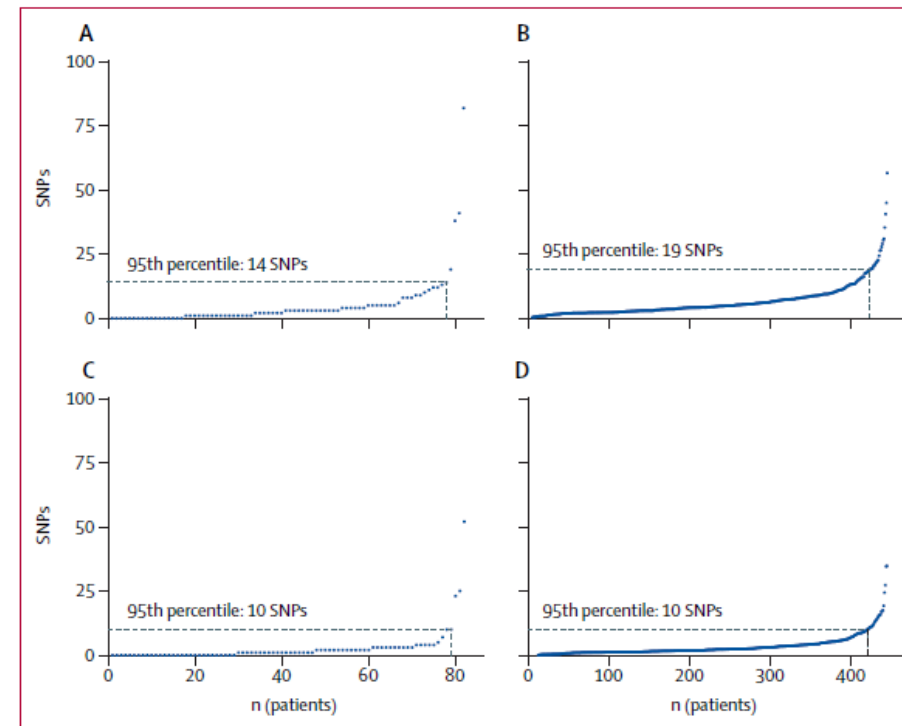


Figure 2: Empirical (A) and modelled (B) clouds of MRSA genetic diversity across individuals in the whole genome and empirical (C) and modelled (D) clouds of MRSA genetic diversity across individuals in the core genome. Each datapoint corresponds to the maximum pairwise genetic distance between MRSA isolates from the same individual in cohort 1, measured as the number of SNPs in the whole or genome. The empirical cloud of diversity refers to diversity noted between isolates from the same individual collected on the same day. The modelled cloud of diversity was estimated from a linear mixed model of isolates from the same individual collected on different days. MRSA=meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. SNP=single-nucleotide polymorphism.

Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Nueva aproximación para identificación de clústeres de transmisión

- Metodología:
 - Análisis comparativo de SNPs
- Transmisión:
 - <Threshold (6 SNPs): basado en el número de SNPs detectado en aislados de un mismo paciente al principio y final del estudio (6 meses)
- Categorías en función de la probabilidad epidemiológica:
- Vínculos fuertes:
 - Bay overlap: coincidencia en espacio y tiempo
 - Bay/room gap of up to 7 days: coincidencia en espacio con una distancia de tiempo de máximo 7 días
 - Ward overlap: coincidencia en la misma planta y tiempo
 - Ward gap of up to 7 days: coincidencia en la misma planta con una distancia de tiempo de máximo 7 días
- Vínculos débiles:
 - Coincidencia en el mismo hospital pero en diferente planta

Quantifying acquisition and transmission of *Enterococcus faecium* using genomic surveillance

Theodore Gouliouris^{1,2,7}, Francesc Coll^{3,7}, Catherine Ludden³, Beth Blane¹, Kathy E. Raven¹, Plamena Naydenova¹, Charles Crawley², Mili Estée Török^{1,2}, David A. Enoch^{2,4,5}, Nicholas M. Brown^{2,4,5}, Ewan M. Harrison^{1,6}, Julian Parkhill¹ and Sharon J. Peacock^{1,2,4}

Nat Microbiol. 2021

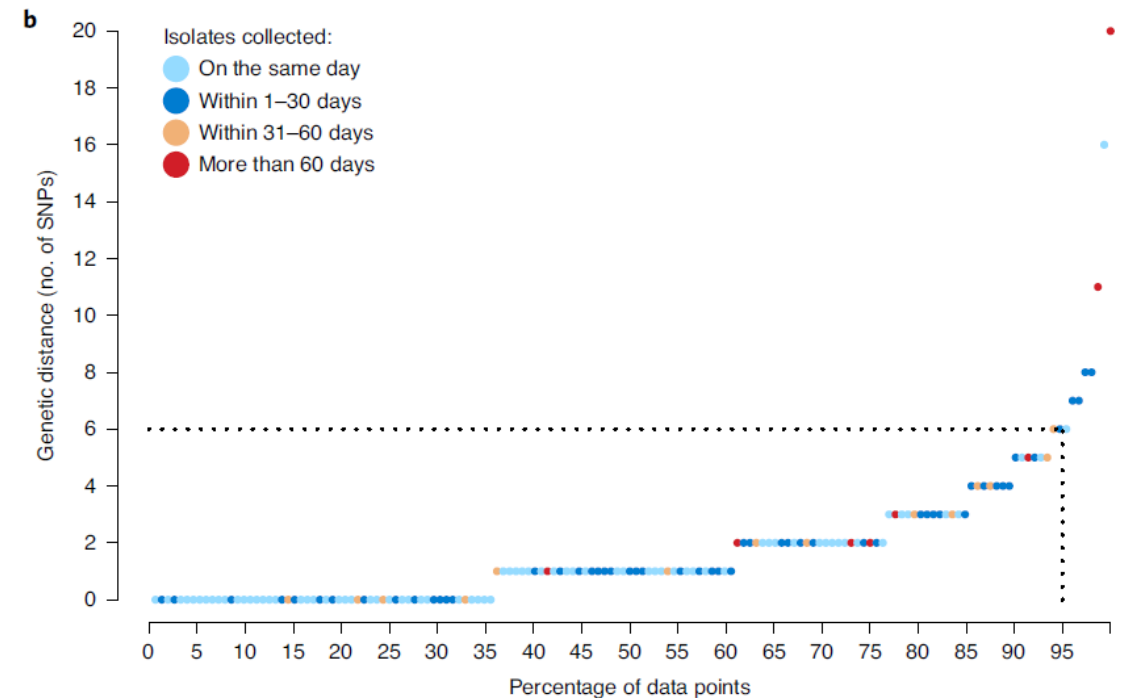


Fig. 2 | *E. faecium* within host diversity. Maximum pairwise SNP distance among isolates of the same subtype and in the same patient ($n = 152$). The colour of the dot denotes the time span between isolates

Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Nueva aproximación para identificación de clústeres de transmisión

- Metodología: Análisis comparativo de SNPs
- Muestras: heces una vez/semana, hasta 15 colonias/muestra
- Transmisión: Threshold (≤ 17 SNPs): basado en el número de SNPs detectado en aislados de un mismo paciente y validado con una distribución de Poisson
- Epidemiological probabilities categories:

Strong links:

- Bay overlap: coincidencia en espacio y tiempo
- Bay/room gap of up to 7 days: coincidencia en espacio con una distancia de tiempo de máximo 7 días
- Ward overlap: coincidencia en la misma planta y tiempo
- Ward gap of up to 7 days: coincidencia en la misma planta con una distancia de tiempo de máximo 7 días

Weak link: coincidencia en espacio tras más de 7 días

No epidemiological link

Defining nosocomial transmission of *Escherichia coli* and antimicrobial resistance genes: a genomic surveillance study

Catherine Ludden, Francesc Coll, Theodore Gouliouris, Olivier Restif, Beth Blane, Grace A Blackwell, Narender Kumar, Plamena Naydenova, Charles Crawley, Nicholas M Brown, Julian Parkhill, Sharon J Peacock

Lancet Microbe. 2021

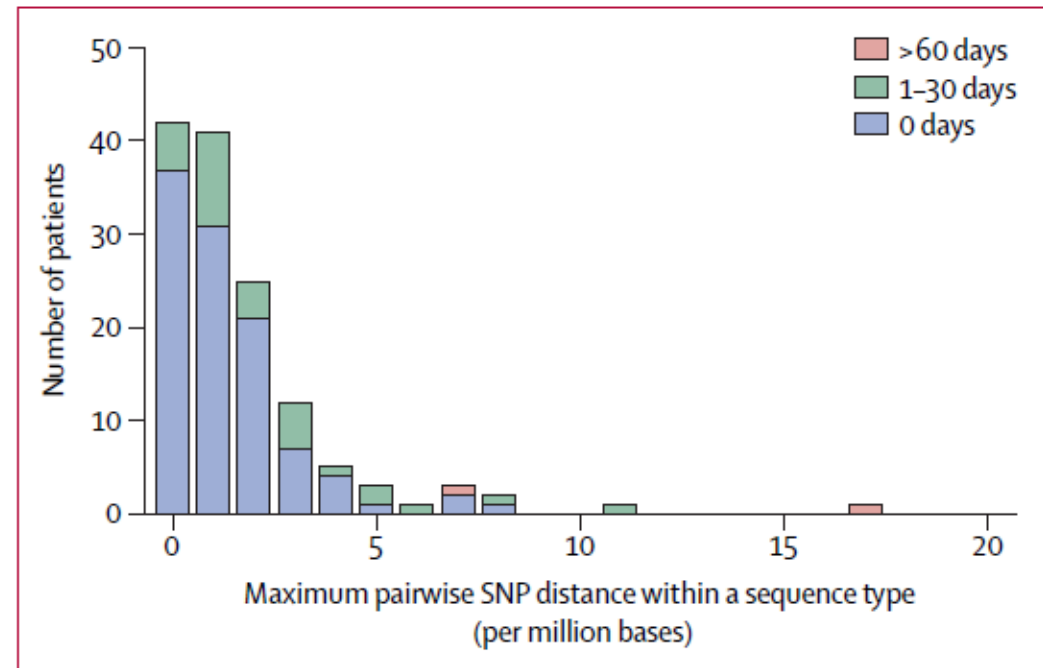


Figure 3: Histogram of maximum pairwise SNP distance (n=92)
SNP differences within sequence types from the same patient when at least two isolates of the same sequence type were identified. There were no data points at 31–60 days. SNP=single nucleotide polymorphism.

Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Nueva aproximación para identificación de clústeres de transmisión

- ✓ Determinación del **punto de corte propio** para identificar posible evento de transmisión (clúster)
- ✓ **Metodología** fácilmente estandarizable e implementable



- ✓ Cálculo de distancia genética acumulada en aislados de la misma persona a lo largo del tiempo → **Estudio**
“Same Person”



- ✓ Valoración de transmisión según la **evidencia epidemiológica**

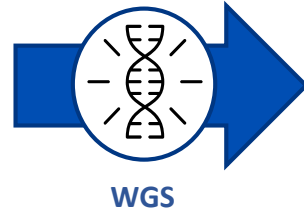
Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Estudio *Same Person*

Cálculo de distancia genética acumulada entre aislados de la misma persona a lo largo del tiempo

Aislados *Same Person*

- *E. coli* (EC)
- *K. pneumoniae* (KP)
- *P. aeruginosa* (PA)
- *S. aureus* (SA)



Análisis de distancia genética

- SNPs cgMLST (EC)
- SNPs wgMLST (KP, PA)
- Alelos cgMLST (EC, KP, PA, SA)
- Alelos wgMLST (KP, PA)



CÁLCULO
PUNTO DE CORTE

Criterios

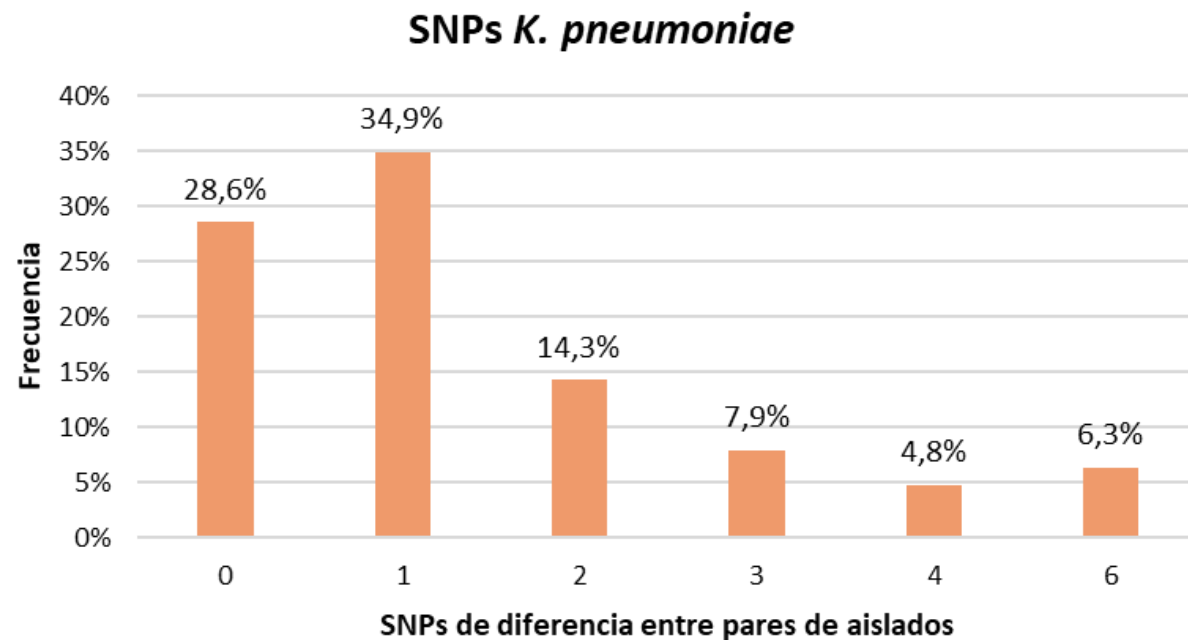
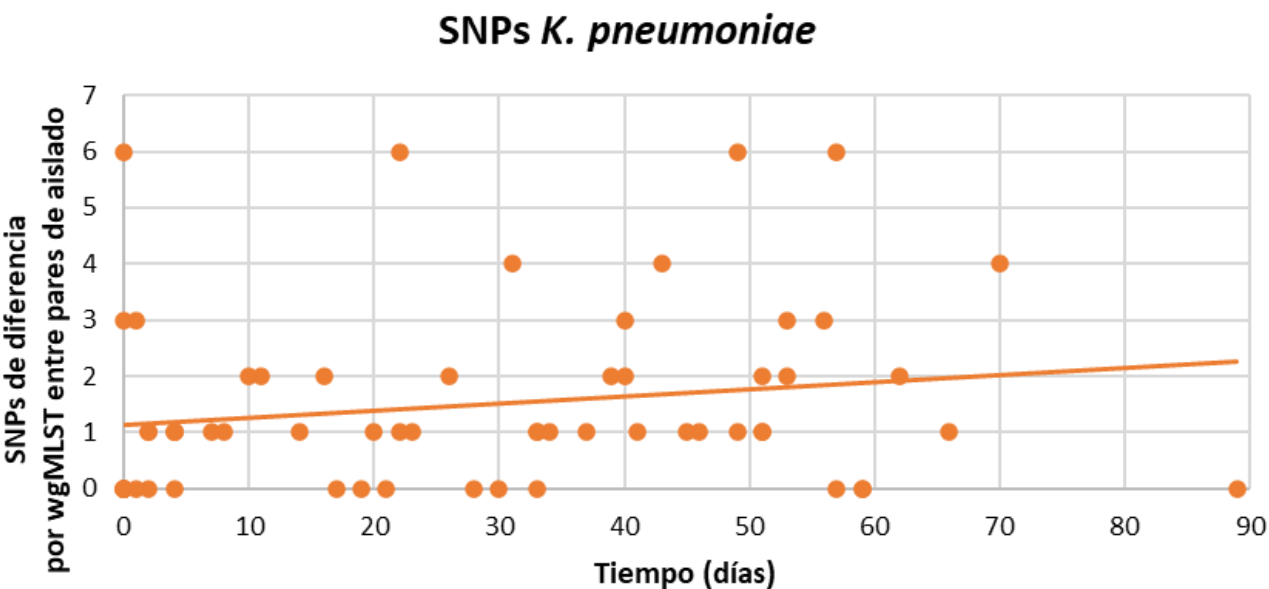
- **Misma localización:** >7 días ≤3 meses
- **Diferentes localizaciones:** ≤3 meses
- 2-10 aislados/paciente hasta tener 100 de cada especie

Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Estudio *Same Person: K. pneumoniae* SNPs-wgMLST

N aislados	N pacientes	N relaciones	Rango SNPs	STs
113	57	64	0-6	23 diferentes (16 relaciones ST101)

Colonización	Infección	Total
32 (28,3%)	81 (71,7%)	113

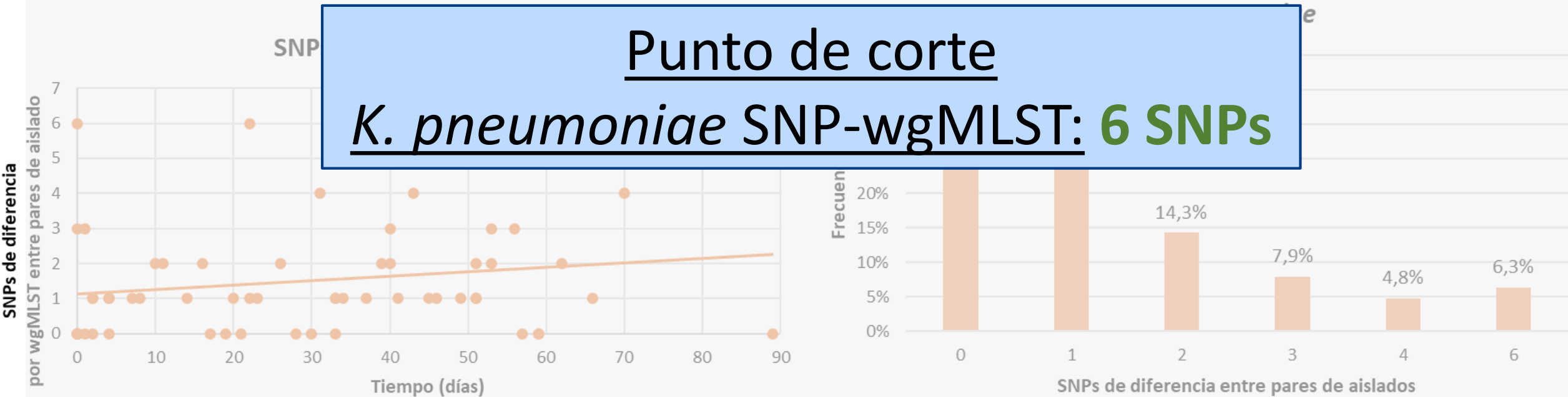


Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Estudio *Same Person: K. pneumoniae* SNP-wgMLST

N aislados	N pacientes	N relaciones	Rango SNPs	STs
113	57	64	0-6	23 diferentes (16 relaciones ST101)

Colonización	Infección	Total
32 (28,3%)	81 (71,7%)	113

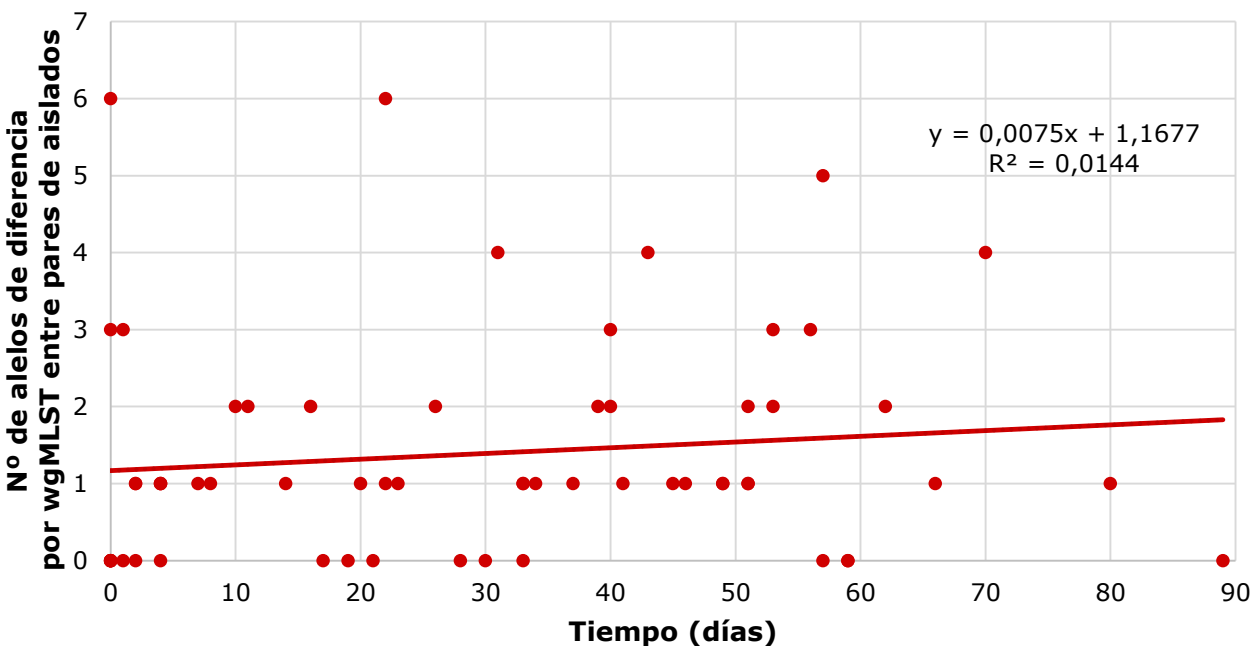


Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

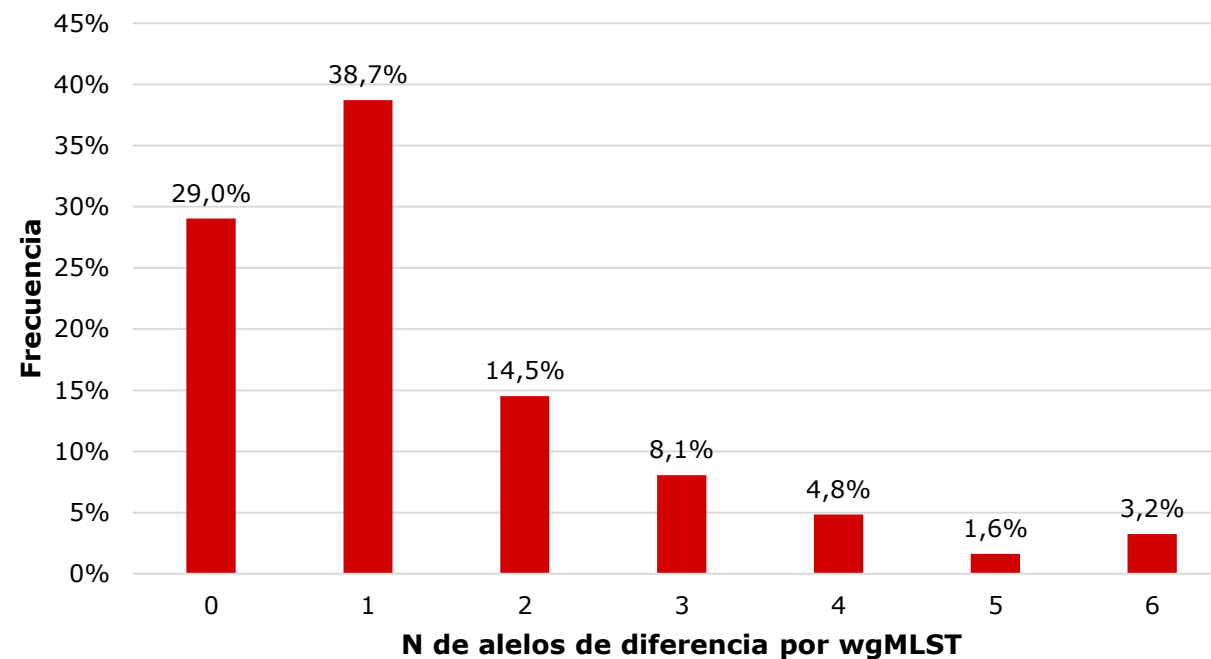
Estudio *Same Person: K. pneumoniae* wgMLST

N aislados	N pacientes	N relaciones	Rango alelos diferencia wgMLST	STs
113	57	64	0-6	23 diferentes (16 relaciones ST101)

Alelos wgMLST *K. pneumoniae*



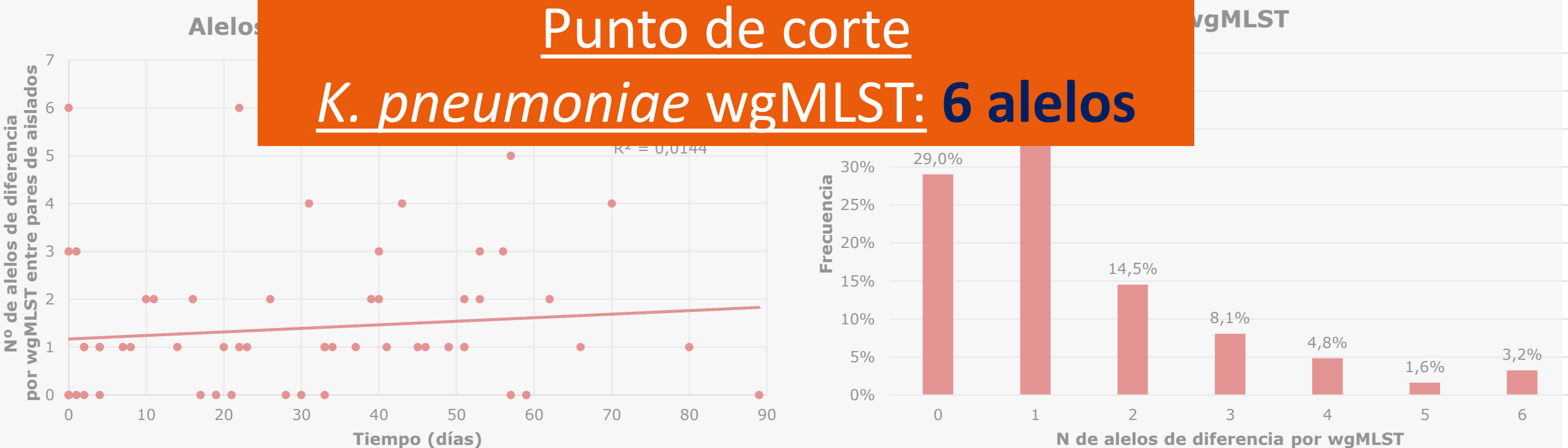
Alelos wgMLST



Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Estudio *Same Person: K. pneumoniae* wgMLST

N aislados	N pacientes	N relaciones	Rango alelos diferencia wgMLST	STs
113	57	64	0-6	23 diferentes (16 relaciones ST101)

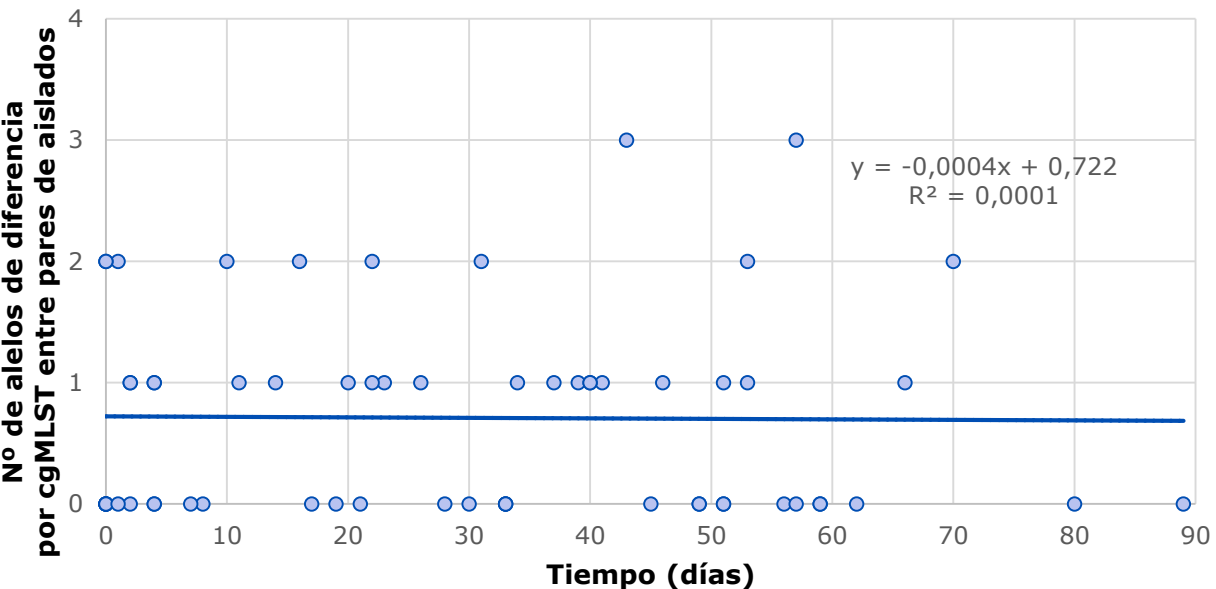


Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

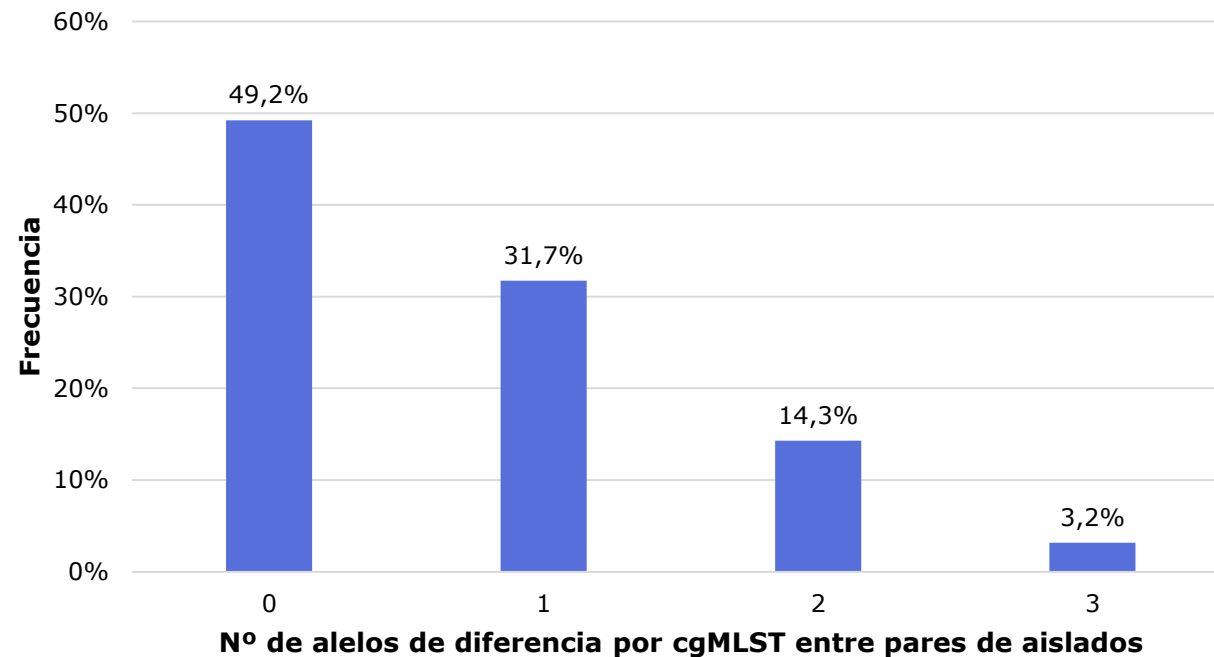
Estudio *Same Person: K. pneumoniae* cgMLST

N aislados	N pacientes	N relaciones	Rango alelos diferencia cgMLST	STs
113	57	64	0-6	23 diferentes (16 relaciones ST101)

Alelos cgMLST



Alelos cgMLST

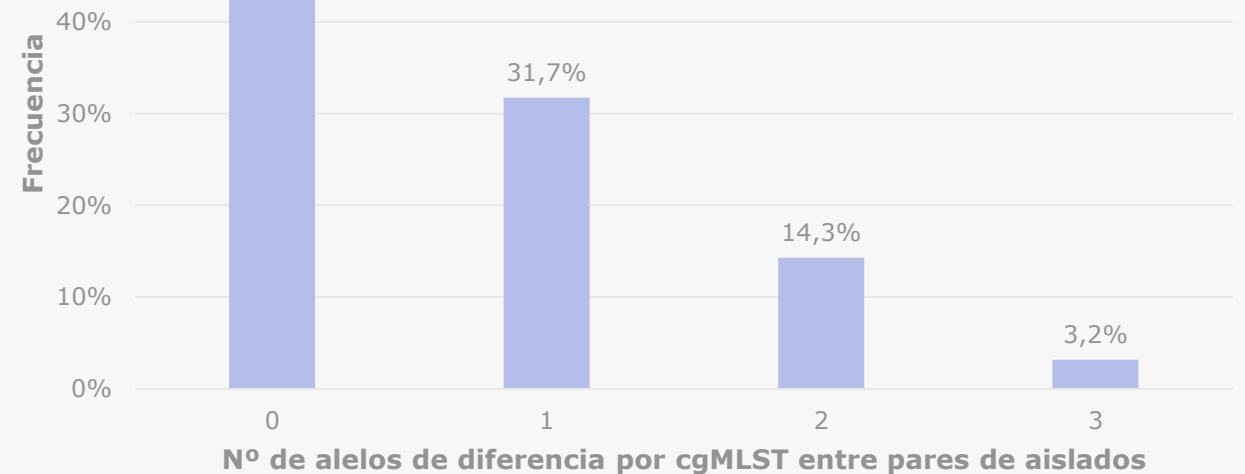
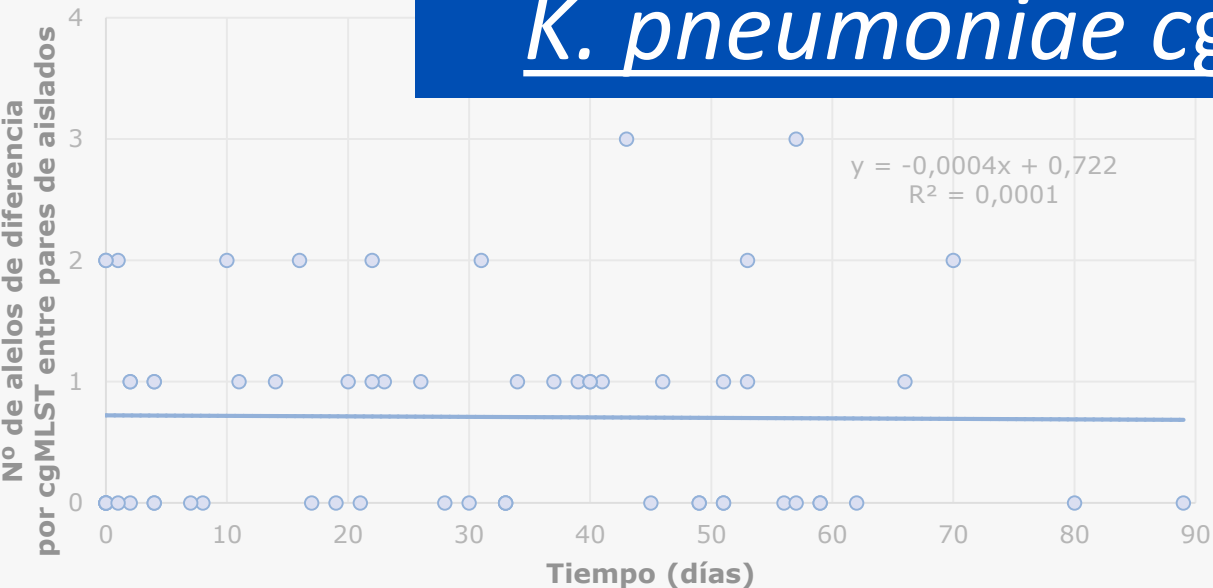


Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Estudio *Same Person: K. pneumoniae* cgMLST

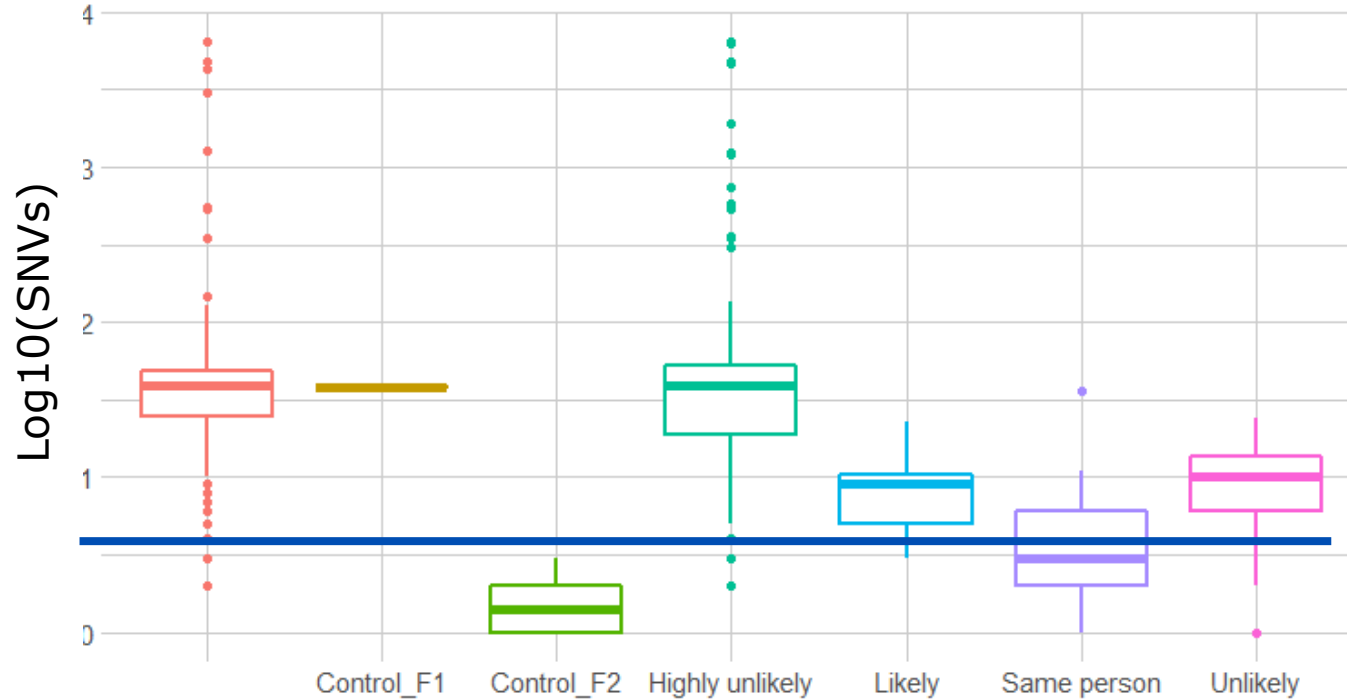
N aislados	N pacientes	N relaciones	Rango alelos diferencia cgMLST	STs
113	57	64	0-6	23 diferentes (16 relaciones ST101)

Punto de corte
K. pneumoniae cgMLST: 3 alelos



Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Nueva aproximación para identificación de clústeres de transmisión



	SNVs	N relaciones	N aislados	N casos
Control_F1	37	1	2	2
Control_F2	0-2	8	14	12
Highly unlikely	1-6455	1525	142	134
Likely	2-22	35	34	32
Unlikely	0-23	163	84	79
Same person	0-35	33	54	24

3 SNVs

Boxplot de la distancia entre aislados de una categoría

- Control: Relación entre el aislado de un paciente índice y su control.
- Likely: Coincidencia en espacio y tiempo
- Unlikely: No coinciden en espacio y tiempo, pero son aislamientos del mismo hospital
- Highly unlikely : Aislamientos de diferentes hospitales

Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Estudio Same Person: conclusiones

- **Determinación del punto de corte para considerar transmisión**
 - En el 98% de relaciones entre aislados de *E. coli* obtenidos de un mismo paciente con hasta 3 meses de diferencia no se observan diferencias de SNVs superiores al punto de corte previo (IRAS1)
 - Tras aumentar la n de cepas recogidas de una misma persona (hasta 3 meses), el punto de corte en *E. coli* se mantiene igual al definido mediante el análisis de SNVs previo (IRAS1) → 4 SNVs
 - En el 88% de relaciones entre aislados de *K. pneumoniae* obtenidos de un mismo paciente con hasta 3 meses de diferencia no se observan diferencias de SNVs superiores al punto de corte previo (IRAS1)
 - Tras aumentar la n de cepas recogidas de una misma persona (hasta 3 meses), el punto de corte en *K. pneumoniae* aumenta a 6 SNVs

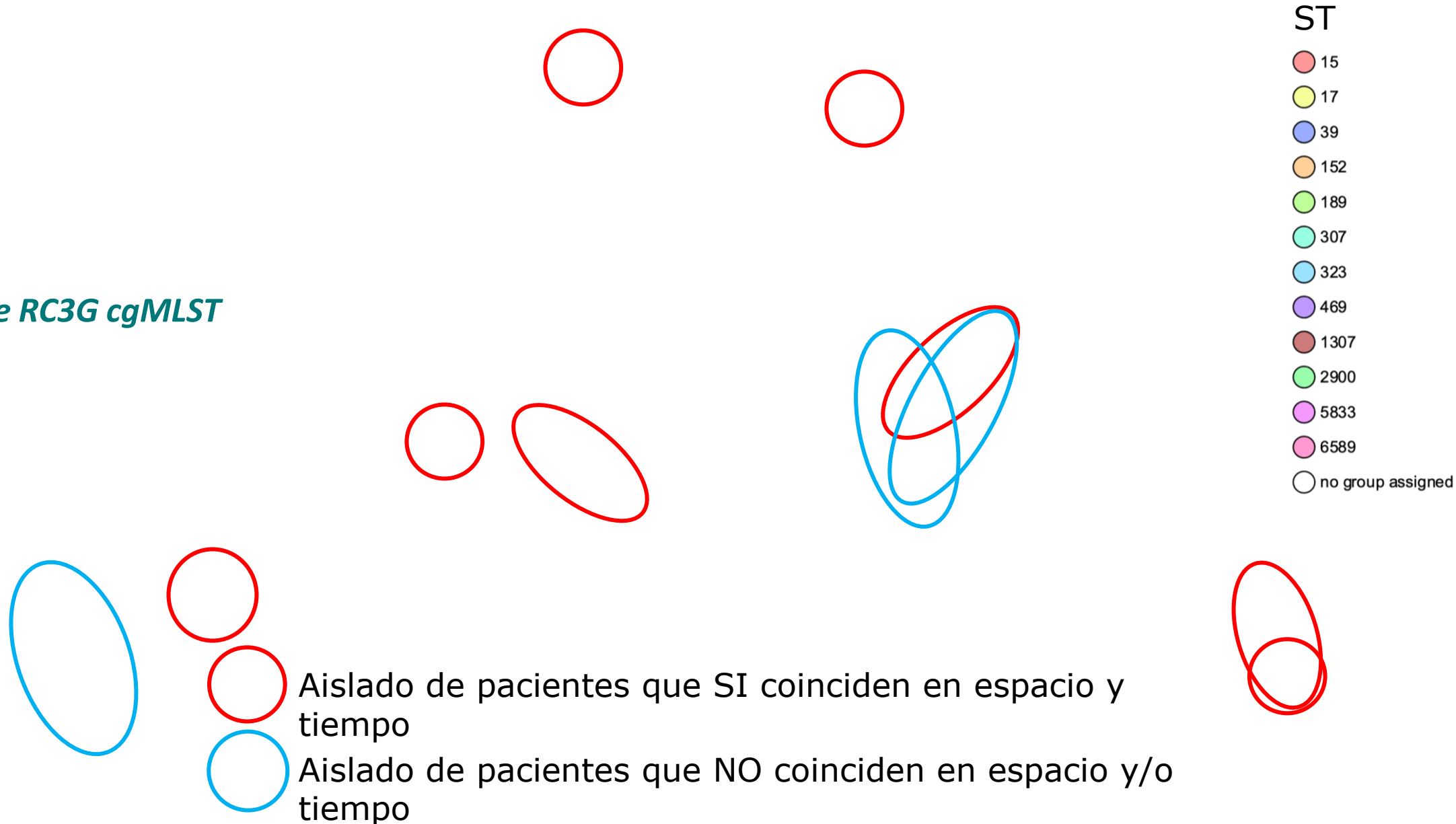
Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

Estudio *Same Person*: Puntos de corte establecidos

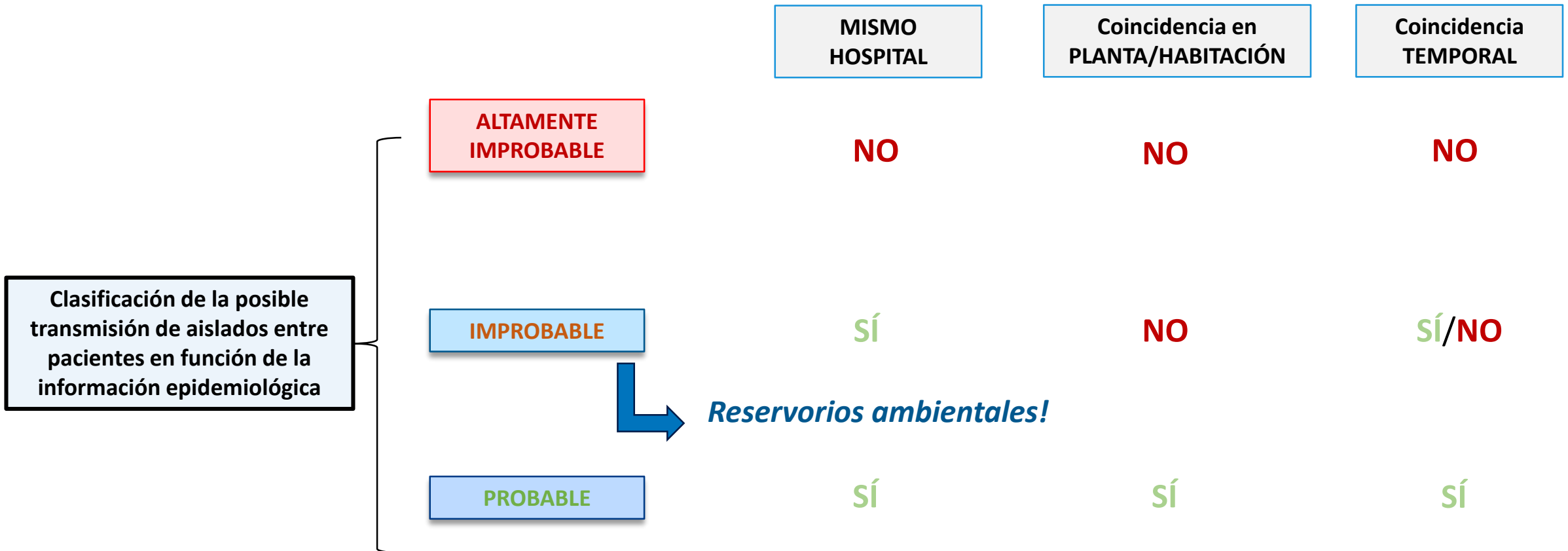
Metodología	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
SNPs-cgMLST/wgMLST	6	4	9	ND
wgMLST	6	ND	7	ND
cgMLST	3	4	5	2

Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR

K. pneumoniae RC3G cgMLST



Identificación de puntos de corte de distancia genética para la detección de posibles transmisiones de BMR



Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el Hospital Vall d'Hebron

 Vall
d'Hebron



 Vall
d'Hebron

Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron

- Monitorización de BGN productores de carbapenemasas
- Monitorización BMR UCI “Resistencia Zero” → IRAS-UCI



Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron

Vigilancia prospectiva mediante WGS de bacterias multirresistentes

UCI Hospital General (35 camas)

- *E. coli* y *K. pneumoniae* RC3G/con resistencia a carbapenémicos
- *P. aeruginosa* XDR/con resistencia a carbapenémicos
- Enterococos resistentes a vancomicina
- *S. aureus* resistente a meticilina
- *A. baumannii* resistente a carbapenémicos.

Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron



CULTIVOS DE ESTUDIO

COLONIZACIÓN

- Cultivos de ingreso → Frotis rectal y frotis faríngeo en las primeras 24h de ingreso en UCI.
- Cultivos de seguimiento → Frotis rectal y frotis faríngeo a la semana si no colonizado al ingreso

MUESTRAS CLÍNICAS

- Durante estancia UCI y hasta 1 mes tras alta

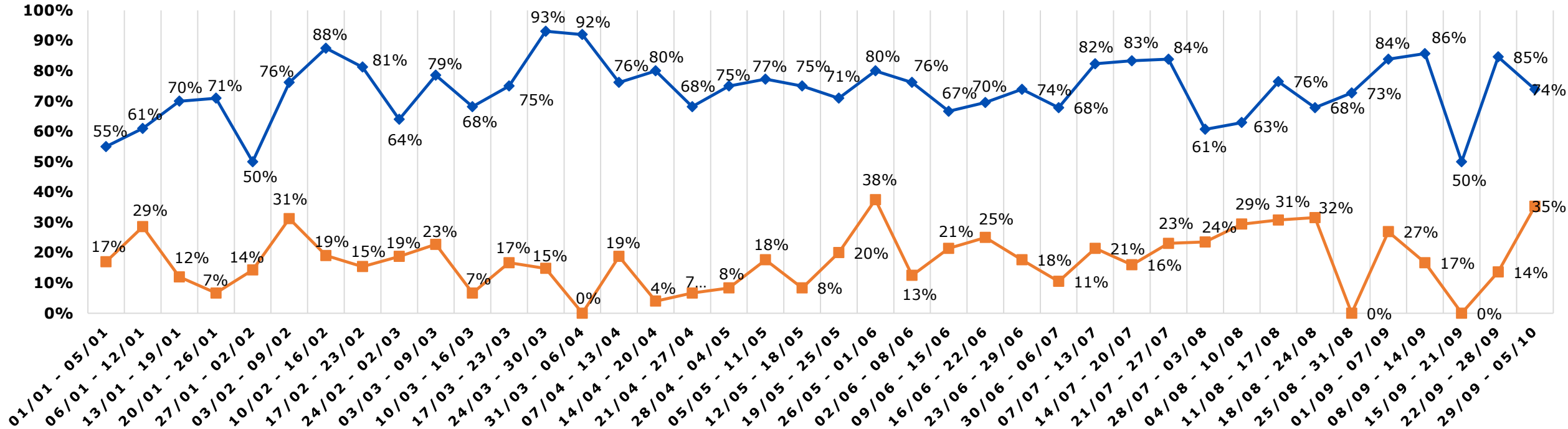
MUESTRAS AMBIENTALES

- Trimestral: superficies + desagües

IRAS-UCI: Cultivos de ingreso

% Cumplimiento cultivos al ingreso/semana
 % Cultivos positivos al ingreso/semana

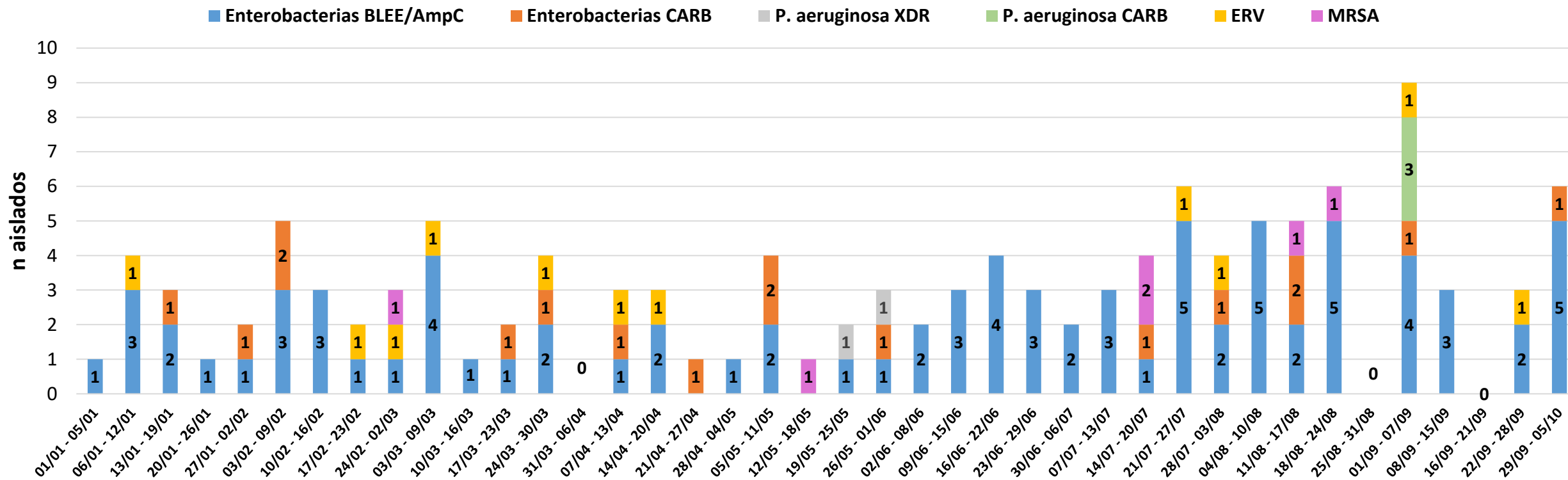
◆ % Cultivos al ingreso/semana ■ % Cultivos ingreso positivos (1r aislado)



(01/01/2025 – 05/10/2025)

- Total ingresos: **874**
- Pacientes con cultivos ingreso: **647 (74%)**
- Pacientes con cultivos ingreso positivos (1r aislado): **114 (18%)**

IRAS-UCI: Cultivos de ingreso



(01/01/2025 – 05/10/2025)

- Total aislados: **122**
 - Enterobacterias BLEE/AmpC: **82** (68%)
 - Enterobacterias CARB: **17** (14%)
 - *P. aeruginosa* MDR/XDR: **3** (2%)
 - *P. aeruginosa* CARB: **3** (2%)
 - ERV: **11** (9%)
 - MRSA: **6** (5%)

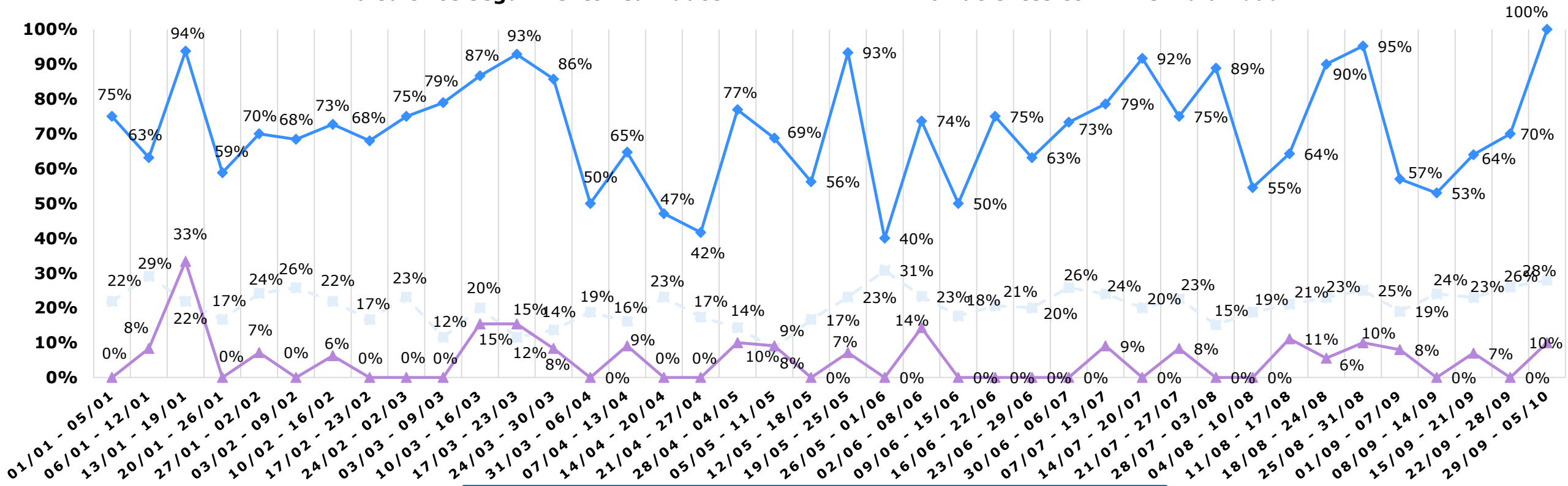
IRAS-UCI: Cultivos de seguimiento

% Cumplimiento cultivos seguimiento/semana

% Cultivos positivos seguimiento/semana

—◆— % Cultivos seguimiento realizados

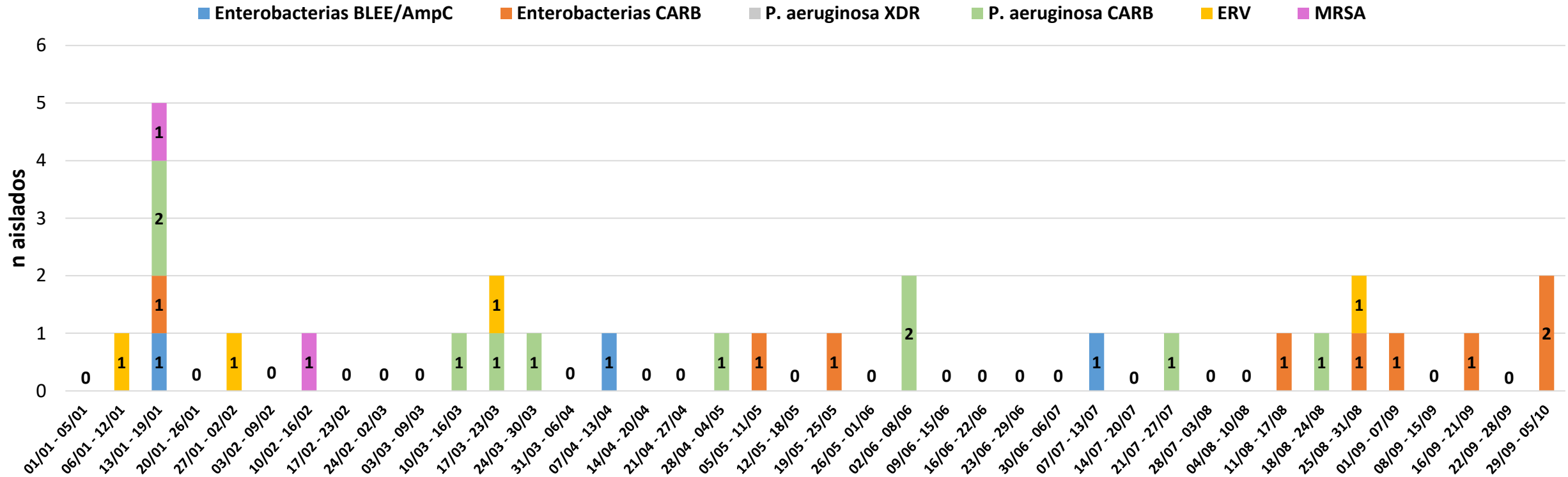
—■— % Pacientes con MR en la unidad



(01/01/2025 - 05/10/2025)

- Pacientes con cultivos seguimiento realizados: **71%**
- Pacientes con MR en la unidad: **21%**
- Pacientes con cultivos seguimiento positivos (1r aislado): **28 (5%)**

IRAS-UCI: Cultivos de seguimiento

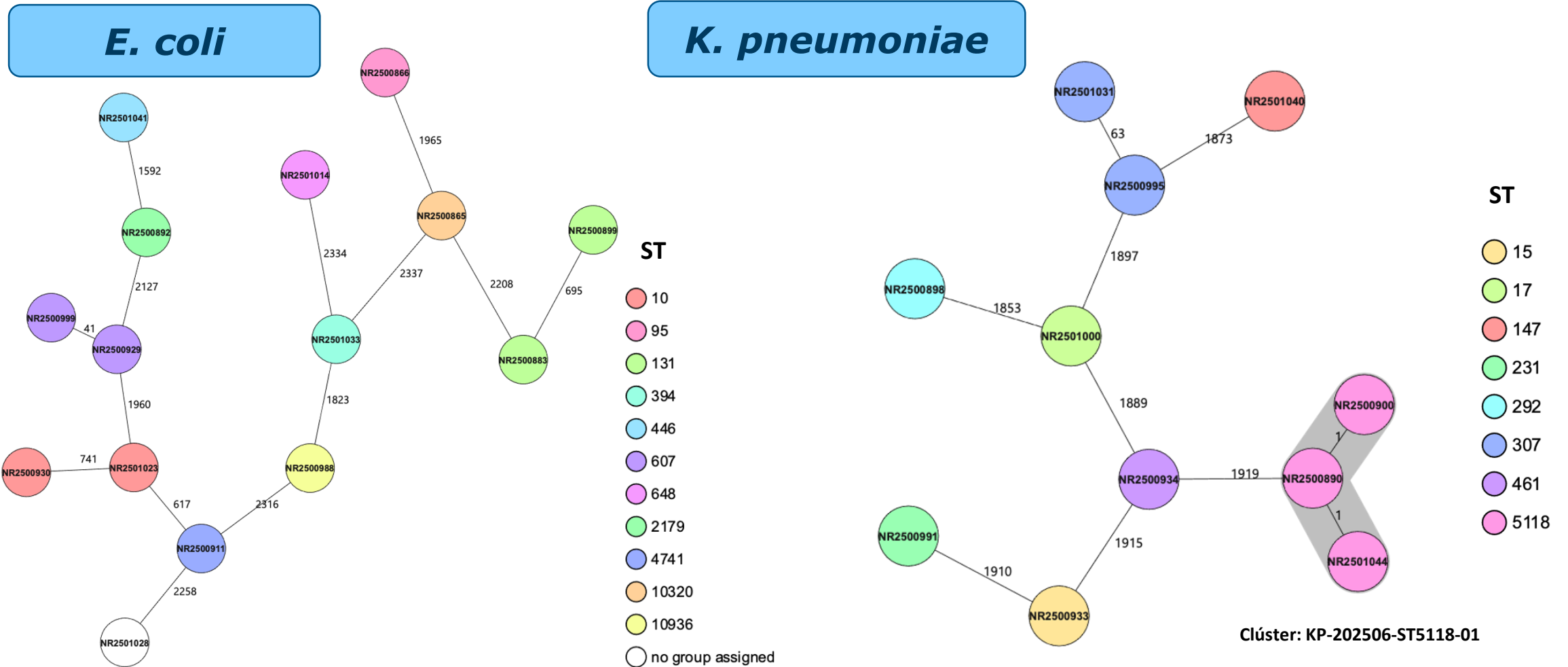


(01/01/2025 - 05/10/2025)

- Total aislados: **28**
 - Enterobacterias BLEE/AmpC: **3** (11%)
 - Enterobacterias CARB: **9** (32%)
 - *P. aeruginosa* XDR: **0**
 - *P. aeruginosa* CARB: **10** (36%)
 - ERV: **4** (14%)
 - MRSA: **2** (7%)

Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron

Análisis mensual de la distancia genética por cgMLST de todos los aislados



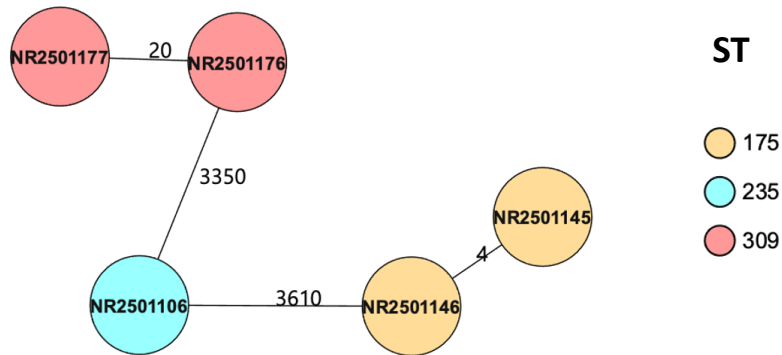
Árbol de distancia mínima por cgMLST de los aislados de *E. coli*.
Punto de corte *E. coli*: 4 alelos cgMLST.

Árbol de distancia mínima por cgMLST de los aislados de *K. pneumoniae*.
Punto de corte *K. pneumoniae*: 3 alelos cgMLST.

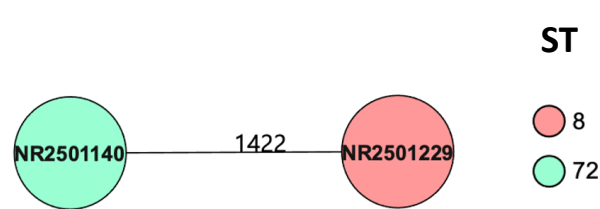
Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron

Análisis mensual de la distancia genética por cgMLST de todos los aislados

P. aeruginosa



S. aureus



E. faecium



Árbol de distancia mínima por cgMLST de los aislados de *P. aeruginosa*

Punto de corte *P.aeruginosa*: 5 alelos cgMLST.

Árbol de distancia mínima por cgMLST de los aislados de *S. aureus*

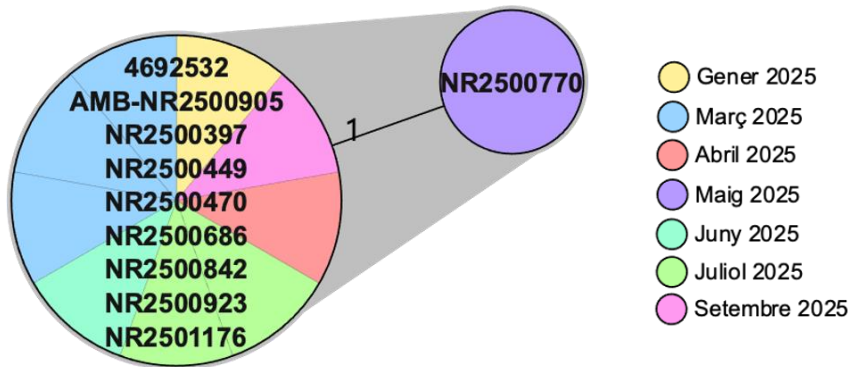
Árbol de distancia mínima por cgMLST de los aislados de *E. faecium*

Clúster: KP-202506-ST5118-01

Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron

Clústeres detectados en meses previos a los que se le suman nuevos aislados:

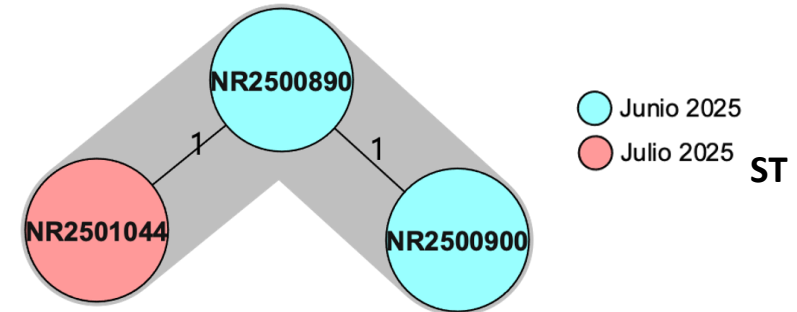
Clúster PA-202504-ST309-01



➤ 1 nuevo aislado de *P. aeruginosa* ST309/VIM-1

Nuevos clústeres detectados en el periodo:

Clúster KP-202506-ST5118-01



➤ 3 aislados de *K. pneumoniae* ST5118/DHA-1

Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron

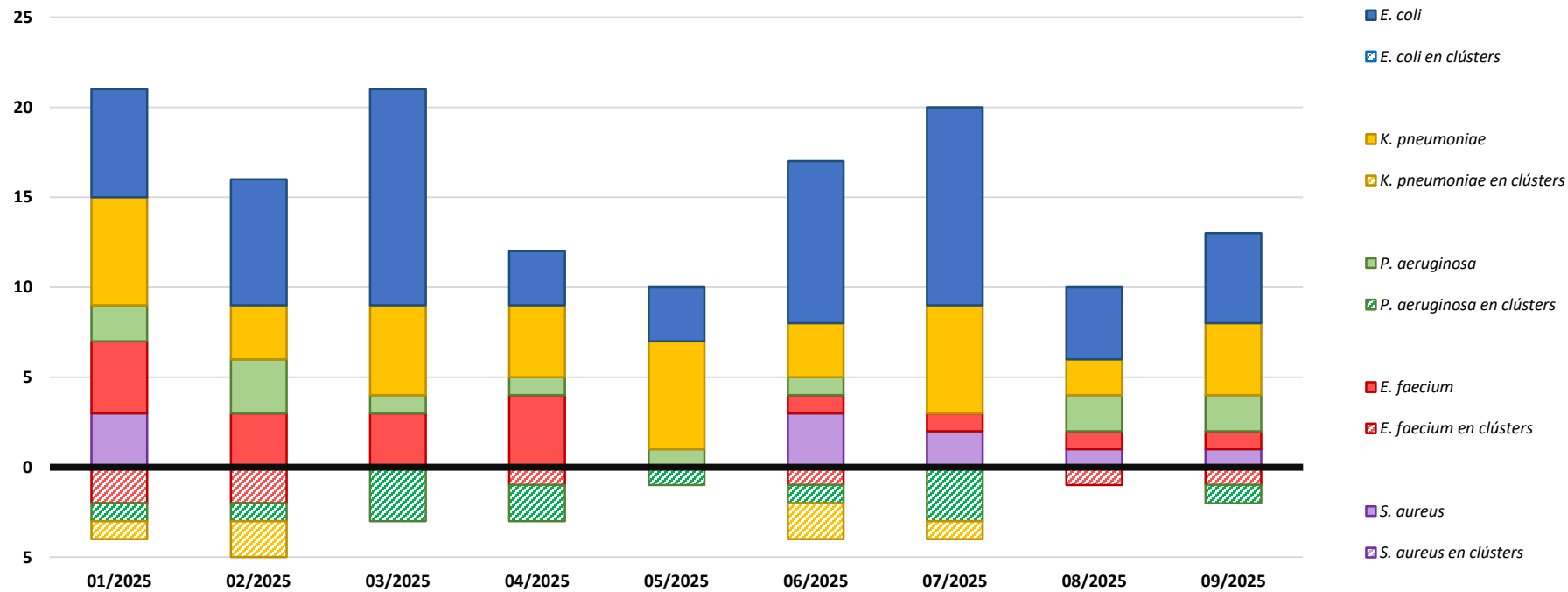
Indicadores de clusterización periodo enero-septiembre 2025

Indicadores	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecium</i>	<i>S. aureus</i>
Aislados totales analizados	64	45	26	19	6
Número de clústeres identificados	0	3	2	2	0
Aislados en clústeres	-	8	12	6	-
Mediana de aislados por clúster	-	2,7	6	3	-
Rango de aislados por clúster	-	2-3	3-10	2-4	-
% de clusterización (aislados en clústers / total aislados)	0%	18%	46%	32%	0%

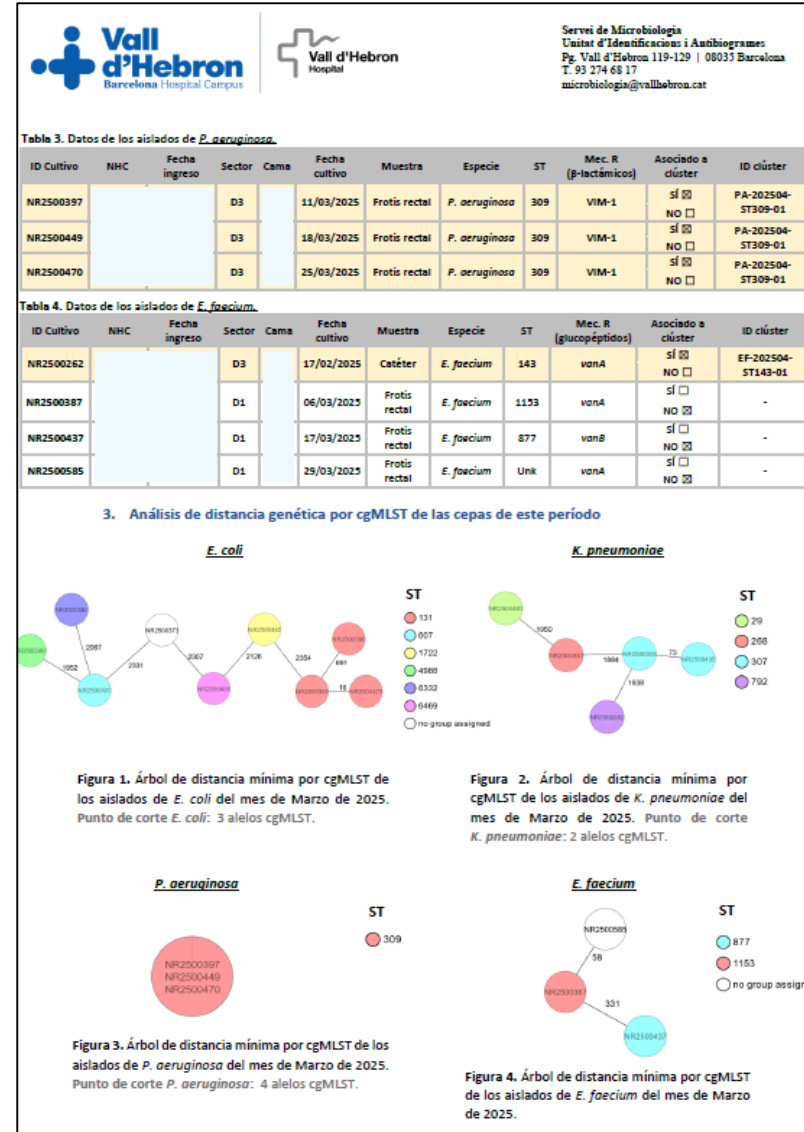
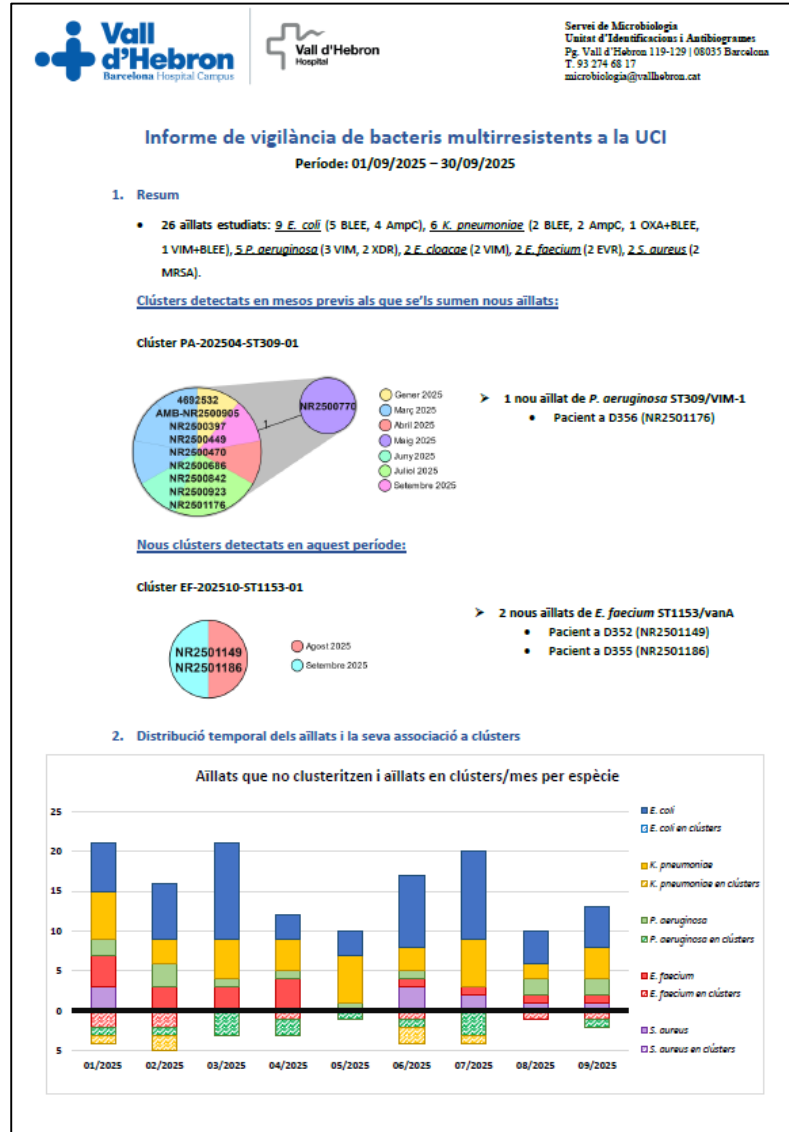
Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron

Indicadores de clusterización periodo enero-septiembre 2025

Aislados que no clusterizan y aislados en clústeres/mes por especie



Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron



Implementación de la WGS para el control de IRAS por BMR en el H. Vall Hebron

Reunión mensual

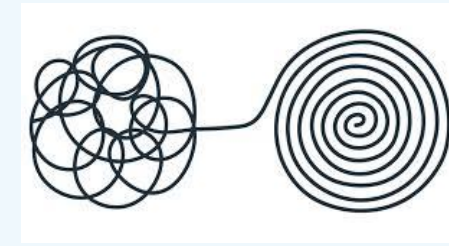
- Microbiólogos
- Infectólogos
- Intensivistas
- Preventivistas
- Enfermería
- Bioinformáticos



- Facilitar la actuación de los equipos de control de infección nosocomial
- Discriminar las transmisiones reales
 - Inicio de intervenciones dirigidas
 - Cese de intervenciones innecesarias
- Evaluar si las intervenciones para interrumpir las transmisiones son efectivas



CONCEPTOS CLAVE



1. La aplicación de la **WGS a la monitorización prospectiva de las IRAS-BMR aporta un nivel de resolución óptimo** para la identificación de transmisiones de bacterias entre pacientes y para la detección precoz de brotes haciendo que sea una herramienta muy valiosa para el control de la infección nosocomial.
2. Es necesario validar lo **puntos de corte** empleados en estudios genómicos para **identificar cadenas de transmisión** de cepas entre pacientes, adaptándolos a la **epidemiología** de cada centro, la **especie** bacteriana o **linaje** concreto.
3. Estudiar conjuntamente los resultados de los estudios de monitorización **por equipos multidisciplinares de control de infección nosocomial** que incluyan microbiólogos, infectólogos, preventivistas, intensivistas, enfermería, bioinformáticos, entre otros, para la **evaluación de resultados e implementación de intervenciones adecuadas.**

AGRADECIMIENTOS

Hospital Vall d'Hebron

- Nieves Larrosa
- Benito Almirante
- Albert Moreno
- Guillem Puigsech
- Alba Mir
- Manuel Solivella
- Belén Viñado
- Ester del Barrio
- Virginia Rodríguez
- Xavier Nuvials
- Dolors Rodríguez
- Cristina Kikegaard
- José Ángel Rodrigo
- Agustín Gayubas
- Luís Armadans
- M. Eva Castillo
- Silvia Aneas
- Carmen Ferrer
- Luis Salas

Hospital de Sant Pau

- Ferrán Navarro
- Alba Rivera
- Elisenda Miró
- Joaquín López-Contreras
- Engracia Fernández
- Àngels Cotura
- Virginia Pomar

C. Nacional de Microbiología

- Jesús Oteo
- María Pérez Vázquez



Parc Taulí

- Silvia Capilla
- Mateu Espasa
- Oriol Gasch

Mutua Terrasa/Catlab

- Elena Jiménez
- Emma Padilla
- Josefa Pérez
- Esther Calbo

Germans Trias

- Irma Casas
- Laia Castella
- Montse Giménez
- M^a Dolores Quesada
- M^a Luisa Pedro
- Nieves Sopena



nieves.Larrosa@vallhebron.cat
juanjo.gonzalez@vallhebron.cat

