

función de órganos por escala SOFA, manifestación clínica, tiempo de tratamiento, curación clínica, curación microbiológica y efectos adversos: toxicidad renal (definida como incremento de creatinina > 2 mg/dL o reducción de diuresis al 50%), hepática, hematológica y neurológicas por estudio neurofisiológico (ENF). Se empleó la Chi-cuadrado y la t-Student siendo significativo $p < 0,05$.

Resultados: Se empleó colistina (Grupo C) en 21 casos, imipenem-cilastatina (Grupo IM) en 14 y otros en 2. El APACHE II ($19,6 \pm 7,2$ vs. $20,5 \pm 7$) y el SOFA al diagnóstico de NAVM ($10 \pm 4,9$ vs. $11,7 \pm 6,6$) fueron similares en ambos grupos así como la incidencia de sepsis grave o shock séptico (86% vs. 79% $p = NS$). La antibioterapia empírica fue apropiada más veces en el grupo IM (71% vs. 19%; $p = 0,002$). La curación clínica se obtuvo en un 57% en ambos grupos con erradicación microbiológica en un 32% en el grupo C y 22% en el IM ($p = NS$). El tiempo medio de tratamiento fue de 11 días en ambos casos. La mortalidad hospitalaria fue 62% en grupo C y 64% en IM ($p = NS$). La mortalidad atribuible fue del 40% y 39% respectivamente. Desarrollaron toxicidad renal 3 en Grupo C y 5 en IM ($p = NS$). Se realizó ENF en 12 pacientes del grupo C sin objetivarse bloqueos de conducción.

Conclusiones: El empleo de colistina intravenosa es un tratamiento al menos tan seguro y eficaz como el imipenem para la NAVM por Ab.

403

TRATAMIENTO SIMPLE Y COMBINADO FRENTE A LA INFECCIÓN POR *ACINETOBACTER BAUMANNII* (Ab) CON MODERADA Y ALTA RESISTENCIA (R) A IMPENEM (IMP) EN UN MODELO DE NEUMONÍA EXPERIMENTAL EN RATÓN

A. Montero, X. Corbella, A. Doménech, J. Ayats, F. Tubau, C. Borraz, C. Cabellos, F. Gudiol y J. Ariza

Hospital de Bellvitge, Barcelona.

En los últimos años, Ab ha adquirido un grado de multi-R antibiótica que incluye al IMP. A pesar de que se ha utilizado ampliamente colistina (COL) como tratamiento (tto), no hay estudios in vivo que comparen su actividad antibacteriana frente otros antibióticos (ATB).

Objetivo: Comparar la eficacia de COL frente otros ATB en solitario y en combinación en el tto de la neumonía por Ab en el ratón.

Métodos: Se utilizaron 2 cepas de Ab con distinto grado de R a IMP. Las CMIs fueron (clon D/clon E): IMP 8/512, sulbactam (SUL) 4/128, tobramicina (TOB) 8/8, rifampicina (RIF) 8/8 y COL 0,5/0,5. Mediante canulación intratraqueal se indujo neumonía a ratones inmunocompetentes C57BL/6. Las dosis de ATB administradas fueron: IMP 200 mg/kg/d, SUL 120 mg/kg/d, TOB 60 mg/kg/d, RIF 25 mg/kg/d y COL 500.000 U/kg/d. Los resultados de la eficacia antibiótica a las 44 horas de tto se expresaron como: media recuentos pulmonares grupo control-media grupo tratamiento (en $\Delta \log_{10}$ UFC/g).

Resultados: En los ratones control, los recuentos pulmonares a las 48 horas de la inoculación fueron: clon D $10,83 \pm 0,32$; clon E $10,77 \pm 0,35$ UFC/g de tejido pulmonar. Los resultados de la actividad antibiótica fueron (clones D/E): IMP -4,48/0,24; SUL -3,67/-0,04; TOB -3,45/-4,16; RIF -3,62/-5,15; COL -0,4/-2,39; IMP + SUL -3,34/; IMP + TOB -5,37/-5,59; IMP + RIF -3,82/-6,98; SUL + TOB -4,62/-4,95; TOB + RIF -3,97/-6,81.

Conclusiones: Aunque COL mostró in vitro CMI bajas que hacían pensar en una buena eficacia antibiótica, los tratamientos aislados con TOB o RIF fueron más efectivos en este modelo de neumonía en ratón para el tto de Ab con R moderada o alta a IMP. IMP y SUL mantuvieron su eficacia en el tto de Ab con R moderada. Las combinaciones de IMP o SUL con TOB mejoraron la actividad de los anti-

bióticos en solitario para el tto del clon D y E. Las combinaciones de IMP o TOB con RIF fueron las más eficaces en el tto de la neumonía en ratones por el clon E o con alta R a IMP.

403 bis

PROYECTO GEIH-Ab 2001: ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO MOLECULAR DE 244 CEPAS DE *ACINETOBACTER SP.* AISLADAS EN DIVERSOS HOSPITALES ESPAÑOLES

A. Ribera, F. Fernández-Cuenca, A. Beceiro, G. Bou, L. Martínez Martínez, A. Pascual, J.M. Cisneros, J. Rodríguez-Baño, J. Pachon, J. Vila y Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH).

Objetivo: Los objetivos de este estudio son: 1) identificar la especie de *Acinetobacter* de todos los aislamientos clínicos recopilados de diferentes hospitales del estado español y 2) estudiar la relación epidemiológica entre ellos.

Metodología: Primeramente se identificaron todos los aislamientos clínicos mediante métodos fenotípicos (pruebas bioquímicas), y genotípicos (ARDRA, Análisis del patrón de restricción resultante de la digestión con enzimas de restricción de elevada frecuencia de corte del producto de amplificación del DNA ribosomal 16S). Posteriormente se procedió a estudiar la relación epidemiológica de todas las cepas mediante dos técnicas epidemiológicas comúnmente utilizadas, REP-PCR y PFGE (Digestión del DNA cromosómico con enzimas de baja frecuencia de corte y electroforesis en campo pulsado).

Resultados: Según los resultados de las pruebas de identificación, de las 244 cepas, 225 correspondían a *A. baumannii*, 18 a *Acinetobacter* Genoespecie 3 y un aislado correspondía a *A. junii*. Con respecto al estudio epidemiológico se obtuvieron 96 pulsotipos diferentes entre los 28 hospitales, mientras que por REP-PCR se obtuvieron 95 patrones diferentes. El índice de discriminación, calculado según el método de Hunter y Gaston, para el PFGE y REP-PCR era de 0,972 y 0,963 respectivamente.

Conclusiones: La especie más prevalentemente aislada en estos 28 hospitales es *A. baumannii*. Asimismo, se puede concluir que ambas técnicas epidemiológicas (REP-PCR y PFGE) poseen un poder discriminativo equivalente y que existe una gran heterogeneidad de clones de *A. baumannii* en toda España.

Sesión 19

VIH (III). Tratamiento antirretroviral

404

EVOLUCIÓN DEL USO DE ANTIRRETROVIRALES EN ANDALUCÍA, 1992-2000

F. Lozano, R. Jurado, P. Viciano, L. Rodríguez-Félix, V. Gutiérrez-Ravé, M. Causse, M. Torres-Tortosa, J. Marín, M. González y A. Arco. GAEL.

Unidad Enfermedades Infecciosas. Hospital de Valme. Sevilla.

Objetivo: Describir la evolución del tratamiento antirretroviral (TAR) en la población infectada por el VIH atendida en los hospitales públicos de Andalucía en el periodo 1992-2000.

Métodos: 12 estudios transversales de pacientes adultos con infección por el VIH atendidos en las consultas externas de Enfermedades Infecciosas y Medicina Interna de

23 hospitales públicos. Se recogieron datos relacionados con el TAR mediante un protocolo codificado y confidencial. Se realizó un análisis descriptivo con el programa EPI-INFO v6.

Resultados: Se incluyeron 8.344 pacientes (77% varones, edad media 33,3 años). El 68% eran o habían sido UDVP, el 33% tenían sida, el 46% se encontraban asintomáticos y el 36% tenían menos de 200 CD4/ μ L en el momento de la encuesta, siendo la mediana de 290 CD4/ μ L. Globalmente, el 74% de los pacientes atendidos en el periodo 1992-2000 recibía TAR, estabilizándose por encima del 80% en los últimos años. Evolutivamente se ha pasado de la utilización masiva de la zidovudina en monoterapia (1992-1993) a la combinación de 2 ITIAN (1994-1995) y al uso generalizado del TARGA a partir de 1996. La proporción de pacientes con IP se incrementó del 33% en 1996 al 84% en 1998 para descender posteriormente al 58% en el 2000. Por el contrario, en 1998 el 12% de los pacientes recibían un ITINAN frente al 45% en el año 2000. La combinación de 2 ITIAN + 1 IP era utilizada por el 75% de los pacientes con TAR en 1998 frente al 43% en el 2000; en este último año el 39% recibía la asociación de 2 ITIAN + 1 ITINAN (principalmente terapias iniciales o de simplificación) y el 14%, más de 3 fármacos (rescate o intensificación). En el estudio del año 2000 las tres combinaciones más empleadas fueron 3TC y d4T junto a nelfinavir (11%), efavirenz (10%) o indinavir (8%). En ese año, el 58% de los pacientes con TAR tenían una carga viral inferior a 200 copias/mL (por PCR o equivalente) y la mediana de CD4 fue de 372/ μ L.

Conclusiones: En nuestro medio, las recomendaciones terapéuticas internacionales se han incorporado rápidamente a la práctica clínica.

405

¿ES SEGURO INICIAR EL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL (TARGA) EN PACIENTES CON RECuento DE LINFOCITOS CD4 ENTRE 200 Y 350/MCL?

M.J. Pérez-Eliás, A. Moreno, S. Moreno, J.L. Casado, A. Antela, F. Dronda, C. Quereda, E. Navas, M.A. García-Viejo y L. Moreno

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Métodos: Seleccionamos pacientes VIH en categoría A o B (CDC) con más de 200 CD4 que iniciaron terapia antiviral de una cohorte observacional de 500 pacientes (período 1996-2000). Se compararon los resultados clínicos, inmunológicos y virológicos obtenidos en el grupo con CD4 iniciales > 350 CD4/ μ L (Inicio precoz) frente al grupo con 200-350 CD4 (Inicio retrasado).

Resultados: De los 197 pacientes estudiados, 112 estaban en un Inicio Precoz (IP) y 85 en un Inicio retrasado (IR), respectivamente. No se objetivaron diferencias respecto a edad, sexo o carga viral inicial aunque existió una tendencia en el uso previo de drogas vía parenteral (ADVP) y de coinfección por virus de la hepatitis C en los pacientes en IR (65% vs 51%, $p = 0,053$ y 64% vs 49%, $p = 0,097$, respectivamente). Un 89% de los pacientes en ambos grupos alcanzaron menos de 400 copias/ml al año de tratamiento ni diferencias en el recuento de CD4 alcanzado. El tiempo hasta el primer evento clínico o ingreso fue similar en ambos grupos. Sólo se observaron éxitos en el grupo IR, aunque sin relación con el VIH. La frecuencia global de cambio de tratamiento fue similar en ambos grupos aunque en los de IR el cambio por fracaso viral fue más frecuente, como mostraron los análisis univariable (36,5% vs 13%, $p = 0,04$, OR 3,7 95% CI 1,5-9,5) y multivariable ajustando por otros factores de confusión como ADVP, coinfección por virus C y una adherencia inferior al 90% (OR 5 95% CI 1,72-16,6).

Conclusiones: Desde el punto de vista clínico, parece seguro retrasar el inicio de la terapia antirretroviral hasta alcanzar los 200 CD4/mcl. Sin embargo, la mayor probabilidad de cambio por fracaso viral complicaría el manejo de los pacientes con inicio de tratamiento tardío.

406

EVOLUCIÓN DE LOS PACIENTES VIH-POSITIVOS DIAGNOSTICADOS EN LOS AÑOS 1998-2000 EN TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL

F. Artilles, M.J. Pena, M. Varela, M. Hathiramani, D. García y B. Lafarga

Hospital de Gran Canaria Doctor Negrín. Las Palmas.

Objetivo: Evaluar la eficacia de la terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA) en los pacientes diagnosticados de infección por VIH entre el 1 de enero de 1998 y el 31 de diciembre de 2000 y determinar las causas de fracaso terapéutico (FT).

Métodos: *Población de estudio:* 175 pacientes con nuevo diagnóstico de infección por VIH. Se excluyeron 31 pacientes perdidos (más de 12 meses sin acudir a consulta), 6 trasladados a otros centros y 15 fallecidos. De los 123 pacientes restantes, 96 comenzaron la TARGA (78%). *Datos recogidos:* fecha de inicio de tratamiento, adherencia y respuesta al mismo (éxito/fracaso). La adherencia se clasificó como buena (cumplimiento > 95%), moderada (85-95%) y mala (cumplimiento < 85%), medida por la regularidad en las dispensaciones (una vez al mes) y por encuesta a los pacientes. Se consideró FT la presencia de niveles de ARN-VIH en plasma superiores a 50 copias/ml después de 3-6 meses de iniciar el tratamiento.

Resultados: De los 96 pacientes en tratamiento, 79 (82,3%) presentaron buena adherencia al mismo. El tiempo de tratamiento de los pacientes buenos cumplidores en éxito terapéutico fue > 24 meses en 22 pacientes, de 18-24 meses en 16, de 12-18 meses en 22 y < 12 meses en 14.

Pacientes en éxito terapéutico 79 (82,3%): buena adherencia 74 (93,7%), moderada adherencia 4 (5,0%) y mala adherencia 1 (1,3%).

Pacientes en FT 17 (17,7%): buena adherencia 5 (29,4%) y mala adherencia 12 (70,6%).

El FT en los pacientes con buena adherencia se detectó desde el inicio del tratamiento en 3 casos.

Conclusiones: 1) El FT en el 70% de los casos se debe a una falta de adherencia al tratamiento. 2) El FT en buenos cumplidores se ha detectado en la mayor parte de los casos desde el inicio del tratamiento, lo que puede sugerir que las resistencias secundarias al mismo en los primeros 2 años son poco frecuentes.

407

EVOLUCIÓN DE PACIENTES CON INMUNODEPRESIÓN PERSISTENTE A PESAR DE CONTROL VIROLÓGICO TRAS HAART

A. Moreno, M.J. Pérez-Eliás, F. Dronda, J.L. Casado, A. Antela, L. Moreno, C. Quereda, E. Bermúdez y S. Moreno

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Objetivo: Determinar el potencial impacto clínico de una respuesta discordante inmuno-virológica en pacientes que inician su primer tratamiento antirretroviral con IP en situación de inmunodepresión avanzada.

Métodos: Estudio prospectivo de la evolución clínica, inmunológica y virológica de 187 pacientes naïve con menos de 200 CD4/mcl al inicio del primer régimen HAART con IP, y seguimiento de al menos 2 años. Se definió como inmunode-

presión severa persistente (ISP) la persistencia de menos de 200 CD4/mcl a pesar de control virológico (CV < 200 copias/ml), y se realizó un análisis multivariable para identificar los factores de riesgo de ISP.

Resultados: La mayoría de los pacientes (155, 83%) alcanzaron carga viral indetectable tras el primer año de tratamiento. El porcentaje de pacientes con ISP disminuyó progresivamente a lo largo del seguimiento: 45, 21 y 8 a los 12, 24 y 36 meses, respectivamente. La mediana basal de CV y CD4 fue de 5,3 log₁₀/ml (2,3-6,5) y 87 células/mcl (2-200). Existía diagnóstico previo de sida en el 45%. En cuanto a las características basales, encontramos diferencias significativas entre pacientes con ISP y no-ISP en el sexo (83 vs 68% varones, p 0,04), sida previo (56 vs 36%, p 0,02) y recuento de CD4 (62 vs 110 cells/mcl, p < 0,0001). No hubo diferencias en la tasa y tipo de eventos clínicos, ingresos o mortalidad entre ambos grupos, pero sí en el número de visitas a la consultas (13 vs 11, p 0,03), ingresos por paciente (2 vs 1, p 0,03), y el tiempo al primer ingreso (127 vs 435 días, p 0,01). En el análisis multivariable, sólo la cifra basal de CD4 (riesgo relativo, RR, 0,99 por cada incremento de CD4; intervalo de confianza, IC 95% [0,99-0,97]; p = 0,0001), predijo de forma significativa el riesgo de ISP.

Conclusiones: Retrasar el inicio del HAART aumenta el riesgo de una recuperación inmunológica incompleta a pesar de un adecuado control virológico. La recuperación inmunológica depende del tiempo en tratamiento eficaz. Presentar una inmunodepresión severa persistente no condiciona un curso clínico peor, pero generalmente produce un mayor consumo de recursos.

408

EL COCIENTE INHIBITORIO (C_{min}/C_{I₅₀}) COMO PREDICCIÓN DE RESPUESTA VIROLÓGICA EN LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

J.L. Casado, A. Moreno, P. Martí-Belda, R. Sabido, E. Bermudez, A. Antela, M.J. Pérez-Eliás, M. Uriarte y S. Moreno

Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Introducción: El cociente inhibitorio (IQ, C_{valle}/C_{I₅₀} corregida por unión a proteínas) podría mejorar el grado de respuesta con la combinación de inhibidores de la proteasa.

Métodos: Estudio prospectivo de 52 pacientes incluidos en un régimen de rescate con RTV + IDV (100/800 mg, 25 pacientes) o con NFV + SQV (27 pacientes). Los niveles plasmáticos de inhibidores de proteasa se obtuvieron por un método validado de HPLC. La C_{I₅₀} se obtuvo a través de ensayos de recombinación viral (VircoTM), y se corrigió por unión a proteínas.

Resultados: El número medio de mutaciones en el gen de la proteasa fue de 9 (1-15) predominantemente en los residuos 82 (47%), 90 (43%), y 46 (35%). Para el IDV, la C_{valle} mediana fue 1.550 ng/ml (60-4740), la C_{I₅₀} de la cepa de referencia fue de 84 ng/ml, y la C_{I₅₀} mediana en las cepas resistentes fue de 2.264 ng/ml. Así, el cociente inhibitorio fue de 0,42 (0,06-5,01). Para NFV y SQV, la C_{valle} mediana fue de 2.480 ng/ml y 160 ng/ml, la C_{I₅₀} de la cepa de referencia fue de 6,35 y 4,22 ng/ml, y la C_{I₅₀} corregida por unión a proteínas, de las cepas resistentes fue 3.406,6 y 274,3 ng/ml respectivamente. De esta forma, el cociente inhibitorio fue de 0,85 (0,06-14,74) para nelfinavir y 0,3 (0,009-6,39) para saquinavir. Independientemente de otros factores, se observó una mayor descenso de carga viral en pacientes que lograron un cociente inhibitorio (IQ) mayor de 1:

Fármaco/IQ	0-1	> 1	p
Indinavir	-0,83	-1,2	0,09
Nelfinavir	-0,51	-1,68	0,04
Saquinavir	-0,92	-1,1	0,03

Conclusiones: Este estudio demuestra la posibilidad de "sobrepasar" las resistencias con una combinación de IP. El cociente inhibitorio, individualizado para cada paciente, es una herramienta útil para mejorar el grado de respuesta virológica en un régimen antirretroviral de rescate.

409

RESPUESTA INMUNOLÓGICA DISCORDANTE EN PACIENTES VIH+ CON TERAPIA DE ALTA EFICACIA Y SUPRESIÓN VIROLÓGICA MANTENIDA

F. Dronda, S. Moreno, A. Moreno, M.J. Pérez-Eliás, J.L. Casado y A. Antela

Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Fundamento: Una proporción significativa de pacientes que reciben terapia antirretroviral de alta eficacia (TARGE) no presentan recuperaciones inmunológicas en consonancia con la respuesta virológica alcanzada. Se desconocen los factores implicados, la frecuencia y el significado clínico de estas situaciones.

Métodos: Estudio observacional, prospectivo de cohortes en un hospital terciario español. Inclusión de todos los pacientes VIH+ sin terapia previa, que iniciaron TARGE después de marzo de 1996, y mantuvieron supresión viral plasmática mantenida durante al menos 24 meses.

Resultados: Se incluyeron un total de 288 adultos (edad media 36 años, 74% varones, 61% uso previo de drogas no prescritas, 29% sida previo, 65% con hepatopatía crónica por VHC). Al inicio, la mediana de linfocitos CD4+ y carga viral del VIH-1 fueron 186/mm³ y 5 log₁₀, respectivamente. Tras 24 meses de tratamiento, 42 pacientes (16,5%) habían incrementado la cifra de CD4+ < 100 células/mm³. Tras realizar un análisis de regresión logística, el haber sido adicto a drogas intravenosas (RR 2.326; IC95%: 1.077-5.023; p = 0,032) se asoció a una peor recuperación inmunológica de CD4+ (< 100/mm³ de incremento desde basal), mientras que el recibir un fármaco inhibidor de la proteasa en la terapia redujo el riesgo de presentar dicha respuesta discordante (RR 0,160; IC95%: 0,061-0,417; p = 0,000). Se produjeron 44 infecciones oportunistas durante el seguimiento, que tendieron a ocurrir entre aquellos pacientes que permanecieron con cifras de CD4+ < 200/mm³ (p = 0,042).

Conclusiones: La escasa recuperación inmunológica, a pesar de una adecuada supresión virológica, es relativamente frecuente en la práctica clínica diaria. Los pacientes que no incrementan sus cifras de linfocitos CD4+ hasta ciertos niveles presentan un mayor riesgo de infecciones oportunistas. Los regímenes que contenían inhibidores de la proteasa proporcionaron mejores respuestas inmunológicas que aquellos basados en inhibidores de la retrotranscriptasa, a los 24 meses de seguimiento.

410

REBROTOS TRANSITORIOS DE VIREMIA EN PACIENTES VIH CON TARGA: CONFIRMACIÓN Y EVALUACIÓN DE FRACASO VIROLÓGICO E INMUNOLÓGICO

C. Nogales, J.A. Mira, S. Bernal, J. Macías, A.J. Ramos, J.A. García-García, J. Fernández-Rivera y J.A. Pineda

Hospital Universitario Valme. Sevilla.

Introducción: Se ha observado que en pacientes infectados por VIH con TARGA y viremia indetectable persistente (VIP), pueden presentarse rebrotos transitorios de carga viral de bajo nivel conocidos como "blips". Existe escasa información sobre si estos rebrotos son verdaderos repuntes de viremia y si estos pacientes tienen un riesgo superior de fracaso virológico (FV) o inmunológico (FI).

Objetivos: Analizar si los pacientes con rebrotes transitorios de carga viral presentan verdaderos repuntes de viremia, y evaluar si presentan un mayor riesgo de tener un FV o FI que los pacientes con VIP.

Métodos: A partir de 1997 se incluyeron en una cohorte prospectiva 309 pacientes que comenzaban TARGA. Se seleccionaron los pacientes con más de 48 semanas de TARGA, y se incluyeron en los grupos repunte y control si cumplían los siguientes criterios: 1) G. repunte: pacientes que tras iniciar TARGA presentaran una viremia VIH detectable con un máximo de 1.000 copias/ml en una visita precedida por 2 visitas consecutivas y una posterior con viremia indetectable. 2) G. VIP: pacientes que tras iniciar TARGA mostraran cuatro determinaciones de carga viral indetectable consecutivas. Se determinó ARN VIH en muestras de suero congelado en la fecha del "blip" por 2 técnicas (NASBA y PCR).

Resultados: 37 (12%) pacientes presentaron blips y 65 (21%) VIP. Se confirmó en siete (19%) de los pacientes el rebrote transitorio por algunas de las 2 técnicas. Tres (8,1%) pacientes del G. repunte y 11 (17%) del G. VIP presentaron un FV. El tiempo al FV fue menor en el G. VIP ($p = 0,05$; log-rank). Cuando se excluyeron los pacientes no adherentes al tratamiento no hubo diferencias en el tiempo al FV ($p = 0,9$; log-rank). No se observaron diferencias en el tiempo al FI ($p = 0,11$; log-rank).

Conclusiones: Los rebrotes transitorios de viremia VIH podrían ser, al menos en parte, verdaderos repuntes de viremia. Los pacientes que presentan dichos rebrotes transitorios no tienen un riesgo superior de FI o FV.

411

INFLUENCIA NEGATIVA DE LA COINFECCIÓN VIH/VHC SOBRE LA RECUPERACIÓN DE CÉLULAS CD4+ DE PACIENTES CON TARGA

J.A. García-García, J. Macías, F. Lozano, J. Fernández-Rivera, J.A. Mira, J.E. Corzo, I. Salas, A.J. Ramos, E. León y J.M. Gómez-Mateos

Hospital Universitario Valme. Sevilla.

Introducción: La coinfección por VIH/VHC es muy prevalente en el sur de Europa. Sin embargo, existen pocos datos acerca del efecto del VHC sobre la respuesta a la TARGA.

Objetivo: Comparar la repoblación de células CD4+ tras iniciar TARGA en pacientes infectados por el VIH con y sin coinfección por VHC.

Pacientes y métodos: Se incluyeron 201 pacientes infectados por VIH, sin tratamiento antirretrovírico previo, procedentes de una cohorte prospectiva. Se determinó el recuento basal de células CD4+ cada 3 meses tras el inicio de TARGA. Analizamos la ganancia media de células CD4+ y el tiempo transcurrido hasta alcanzar 50 y 200 células CD4+/ml por encima del recuento basal. Los niveles medios de $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2m$) se examinaron en los meses 0,6 y 12 en 48 pacientes consecutivos.

Resultados: 123 (61%) pacientes estaban coinfectados por VHC. El tiempo hasta alcanzar 200 CD4+/ml sobre el recuento basal fue mayor en el grupo de pacientes coinfectados por VHC ($p < 0,001$). En un modelo de Cox, la infección por VHC y el no tener una viremia VIH < 200 copias/ml se asociaron con una ganancia de 200 células CD4+ [razón de riesgo (intervalo de confianza 95%) 0,54 (0,34-0,75) y 0,61 (0,47-0,96), respectivamente]. La ganancia media de CD4+ fue menor en el grupo de pacientes coinfectados por VHC durante el primer año de TARGA ($p = 0,02$). Los niveles medios de $\beta 2m$ descendieron menos en el grupo VHC+ ($p = 0,001$).

Conclusión: Los pacientes coinfectados por VIH/VHC, no tratados anteriormente, mostraron una recuperación de células CD4+ más lenta tras comenzar TARGA. Esta peor repoblación en los pacientes coinfectados por VHC podría deberse a una peor desactivación inmune.

412

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LA EXPRESIÓN DE CD38 POR CÉLULAS CD8 DE PACIENTES CON INFECCIÓN VIH. EFECTO DEL TRATAMIENTO ANTIRETROVIRAL

J.M. Benito, M. López, S. Lozano, J. González-Lahoz y V. Soriano
Hospital Carlos III. Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

Introducción: A medida que la infección VIH progresa, el porcentaje de linfocitos que expresan marcadores de activación aumenta. Los linfocitos T CD8+CD38+ están fuertemente correlacionados con la progresión de la enfermedad y poseen poder predictivo de progresión independientemente del nivel de células CD4+. Con la terapia antirretroviral (HAART), el nivel de las subpoblaciones activadas disminuye, lo que sugiere una relación entre dichas subpoblaciones y los niveles de carga viral (CV). Recientemente, la expresión de CD38 por células CD8 se ha propuesto como un indicador sensible de replicación viral.

Objetivo: Analizar la intensidad de expresión de CD38 en células CD8 de pacientes con infección crónica por VIH, así como el efecto del tratamiento HAART sobre dicho parámetro.

Sujetos y métodos: Se han estudiado 30 pacientes con tratamiento HAART, 22 pacientes no tratados y 7 controles sanos VIH negativos. En el momento de estudio, todos los pacientes tratados habían recibido tratamiento durante al menos 12 meses y tenían CV indetectable (< 50 copias/ml). El nivel de expresión de la molécula CD38 se cuantificó por citometría de flujo.

Resultados: Los niveles de células CD4+ fueron similares en ambos grupos de pacientes (tratados: 436 ± 58 , no tratados: 431 ± 58 cel/ μ l). La media de CV en el grupo de pacientes sin tratamiento fue de 78.711 ± 32.047 copias/ml. El nivel de expresión de CD38 en células CD8+ estaba significativamente incrementado en el grupo de pacientes sin tratamiento comparado con el grupo de pacientes tratados y el grupo de controles sanos (6.106 ± 877 , 2.608 ± 354 , 2.768 ± 282 moléculas/célula respectivamente, $p < 0,05$). En el grupo de pacientes sin tratamiento, se observó una correlación significativa entre los niveles de CD38 y los niveles de CV ($r = 0,54$, $p < 0,05$). En 7 pacientes tratados los niveles de CD38 se determinaron en dos tiempos distintos: mes 9 y mes 12 tras el inicio de la terapia HAART. Aunque la CV era indetectable en las dos ocasiones en los 7 pacientes, los niveles de CD38 fueron significativamente más bajos a mes 12 (mes 9: 2.058 ± 778 moléculas/cel, mes 12: 1.457 ± 551 moléculas/cel, $p < 0,05$).

Conclusión: Los niveles de expresión de CD38 por células CD8+ se encuentran incrementados en la infección crónica por VIH y se correlacionan positivamente con el nivel de CV. Este parámetro se normaliza con la terapia HAART, y continúa disminuyendo con el tiempo a pesar de que la CV es indetectable. Estos hallazgos sugieren que el nivel de expresión de CD38 puede constituir un marcador del nivel de replicación viral en estos pacientes.

413

ESTUDIO PILOTO SOBRE LA EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON DDI, 3TC Y EFAVIRENZ ADMINISTRADOS UNA VEZ AL DÍA DURANTE 48 SEMANAS

P. Rivas, M. de Górgolas, R. García Delgado y M.L. Fernández Guerrero

Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Objetivos: Conocer la eficacia y tolerancia de la combinación de DDI + 3TC + EFAVIRENZ administrados en una sola toma al día, antes de dormir.

Métodos: Estudio prospectivo observacional de 49 pacientes seguidos en la División de Enfermedades Infecciosas durante 1 año. Se determinaron la carga viral, CD4, bioquímica elemental y valoración subjetiva del esfuerzo que suponía tomar la medicación.

Resultados: De los 49 pacientes tratados 9 eran "naive", 17 tenían carga viral indetectable tomando IP y 23 estaban en fracaso virológico a pesar de uno o varios tratamientos anti-retrovirales previos. 13 pacientes fueron perdidos durante el seguimiento (26%). Analizados todos los casos 25 pacientes (51% ITT, 69% OT) mantienen cargas virales indetectables a las 48 semanas del tratamiento. La eficacia del tratamiento por grupos fue:

	Naive (n-%ITT-%OT)	Simplificación (n-%ITT-%OT)	En fracaso (n-%ITT-%OT)
CV ind	4-44%-80%	11-64%-85%	10-43%-56%
Frac	1-12%-20%	2-12%-15%	8-35%-44%
Perd	4-44%	4-23%	5-22%

La mayoría de los pacientes (85%) seguidos refería que les costaba poco esfuerzo seguir el tratamiento antirretroviral.

Conclusiones: El tratamiento antirretroviral con DDI + 3TC + EFV es una opción eficaz a largo plazo (48 semanas) y bien tolerada, particularmente cuando se emplea en sujetos "naive" y en simplificación.

414

ALTA EFECTIVIDAD DE EFAVIRENZ (EFV) EN EL TRATAMIENTO DE PACIENTES VIH MUY INMUNODEPRIMIDOS (COHORTE EFAVIP)

A. Lorenzo, F. Pulido, J.R. Arribas, J.M. Miró, A. Costa, J. González, R. Rubio, J.M. Peña, M. Torralba, M. Lonca, C. Cepeda, J.M. Gatell y grupo de estudio EFAVIP

Hospitales 12 Octubre y La Paz, Madrid. Clinic Universitari, Barcelona.

Objetivo: Conocer la respuesta clínica, inmunológica y virológica del HAART basado en EFV, en una cohorte de pacientes en fase avanzada.

Pacientes: Se incluyeron todos los pacientes VIH naive con < 100 CD4 /mL que empezaron tratamiento con EFV y 2 nucleósidos en 3 hospitales.

Resultados: Se incluyeron 91 pacientes (83% varones, 46% transmisión sexual, 38% ADVP). La mediana de CD4 y la carga viral antes de empezar tratamiento (EFV+ d4T+3TC 51%, +AZT+3TC 42%, +DDI-D4T 5%) fue de 32 cel/mL (AIQ 13-62) y 347,000 copias/mL (AIQ 145,000-500,000). 85% tenían enfermedades relacionadas con el VIH y 62% tenían enfermedades definitivas de sida (18 TB, 18 PCP, 12 Cand. Esóf., 5 CMV, 4 Kaposi, 5 Criptoc, 3 Toxo, 3 Criptos, 3 MAI, 2 Leishmania, 1 LMP). Tras una mediana de seguimiento de 42 semanas (AIQ 19-50) hubo sólo 2 recidivas de enfermedades relacionadas con sida (1 MAI tras abandonar HAART y 1 retinitis CMV asociada a inmunorreconstitución), y 3 nuevos diagnósticos (2 tuberculosis, 1 Kaposi resuelto sin tratamiento). La mediana de incremento de CD4 tras 3, 6 y 12 meses fue de 79, 116 y 170 cels. El porcentaje de pacientes que alcanzó un recuento de CD4 > 100/200 cel/mL al mes 3, 6 y 12 fue 57/16, 68/22 y 78/41%. El porcentaje de pacientes con < 50 cop/mL al mes 3, 6 y 12 fue de 30%, 63% y 75% (en tto), y 27%, 57% y 58% (ITT perdido o cambio = fallo). EFV se suspendió en 12 pacientes (13%) debido a: efectos secundarios (4), fracaso virológico (1), interacción farmacológica (2), abandono (5). Hubo 2 fallecimientos durante el seguimiento (por hepatopatía terminal y por wasting syndrome).

Conclusiones: En una cohorte en la "vida real", el HAART basado en EFV mostró una elevada efectividad en pacientes

muy inmunodeprimidos. Estos resultados apoyan el uso de EFV incluso en pacientes con un recuento de CD4 muy bajo y con enfermedad sintomática.

415

SEGURIDAD Y TOLERANCIA DE EFAVIRENZ EN 1.033 PACIENTES CON DIFERENTES REGÍMENES ANTIRRETROVIRALES

J.A. Pérez-Molina y M. Sanz* por el Grupo de Estudio de Farmacovigilancia

Servicio de Microbiología. Hospital Gregorio Marañón.

*Bristol-Myers Squibb. Madrid.

El perfil de tolerancia de un fármaco obtenido en los ensayos clínicos precomercialización no siempre refleja exactamente la realidad en el uso clínico diario. El objetivo de este estudio de farmacovigilancia, prospectivo y multicéntrico fue evaluar la incidencia y gravedad de los efectos adversos (EA) y las interrupciones de tratamiento (IT) relacionadas con Efavirenz (EFV), en la práctica clínica habitual con pacientes VIH+ españoles. Se aplicó un protocolo normalizado realizándose una visita inicial y al menos otra a los 3 meses. En total se incluyeron 1.033 pacientes adultos de 60 hospitales, que comenzaban tratamiento con EFV, de los que un 20% nunca habían tomado tratamiento antirretroviral. El 62,3% tenían como factor de riesgo para la infección por VIH el uso de drogas IV (UDIV). El 6,6% del total tomaban metadona. La incidencia global de EA fue del 29,3% con una proporción de IT del 8,2%. Los EA más frecuentes fueron las alteraciones del SNC que afectaron al 24,1% (se consideraron relacionados con EFV en el 18,5%), no fueron graves y resultaron en un 6% de IT. Otros EA fueron el exantema cutáneo (5,9% con un 2,4% de IT), las molestias digestivas (1,45%, no IT) y la hipertransaminasemia (0,68%, no IT). Los que tomaban metadona tuvieron más EA (39,7%) (principalmente del SNC) e IT (19,1%). El exantema cutáneo fue más frecuente en mujeres. Los antecedentes de alteraciones psiquiátricas, consumo de psicofármacos, tratamiento antirretroviral o intolerancia previa a nevirapina no se asociaron a más EA. La seguridad y tolerancia de EFV fue buena en la mayoría de los pacientes, incluso en una población con una alta tasa de UDIV como la española. Los EA más comunes fueron las alteraciones del SNC, que no suelen ser graves y raramente requirieron la IT. El tratamiento concomitante con metadona produjo una mayor proporción de EA e IT. La intolerancia previa a nevirapina parece que no impediría el uso posterior de EFV.

416

EFICACIA DEL CAMBIO DE INHIBIDOR DE PROTEASA POR NEVIRAPINA EN PACIENTES CON CARGA VIRAL INDETECTABLE

V. Estrada, A. Arranz, A. Nodar y R. Gargía Delgado

Fundación Jiménez Díaz, Hospital Clínico San Carlos y Hospital Príncipe de Asturias

Objetivos: Determinar la eficacia virológica e inmunológica de la nevirapina asociada a dos inhibidores nucleósidos de la transcriptasa reversa en pacientes con VIH con carga viral indetectable y que no toleran los IP.

Métodos: Se han estudiado de forma prospectiva 110 pacientes con VIH-1 en diferentes estadios clínicos en tratamiento antirretroviral eficaz, con cargas virales indetectables al menos durante 3 meses antes de su inclusión. El IP fue sustituido por nevirapina, bien por los efectos secundarios o por simplificación del tratamiento. Se hicieron durante el seguimiento (entre 1 y 3 años) determinaciones de he-

mograma, bioquímica, subpoblaciones linfocitarias y carga viral (límite de detección 200 copias/ml).

Resultados: La edad media era de 38 años (80% varones); el factor de riesgo principal era sexual (75%); el estadio clínico se repartía en A 62%; B 19%; C 19%. La media de CD4 en el momento del cambio fue de 603 células/ml. Las razones para retirar el IP fueron: simplificación del tratamiento 49 (45%), lipodistrofia 26 (24%), alteraciones renales 25 (23%), trastornos digestivos 5 (4%) e hipertrigliceridemia 5 (4%). En tres años se han perdido 18 pacientes (16%). 32 pacientes (35%) suspendieron el tratamiento con nevirapina: 22 por efectos secundarios y 10 por otras causas. Dichos efectos secundarios fueron: hepatitis 9 (8,1%), exantema 7 (6,4%), intolerancia con metadona 2 (2%), intolerancia 1 (1%). De todos los pacientes sólo tres (2,7%) tuvieron rebote de la carga viral, uno de ellos por mala adherencia, volviendo a niveles indetectables al reintroducir el IP. En los 60 pacientes restantes (54%) en seguimiento, la tendencia de los niveles de CD4 es a aumentar (cifra basal media al inicio 554 y tras seguimiento 671), manteniendo cargas virales indetectables. Las cifras de triglicéridos y creatinina mejoraron de forma importante.

Conclusión: La sustitución de un IP por nevirapina en pacientes con carga viral indetectable es una opción eficaz para mantener el control virológico y es bien tolerada.

417

FARMACOCINÉTICA Y EFICACIA DE SAQUINAVIR/RITONAVIR (1.200/100 MG) Y EFAVIRENZ ADMINISTRADOS UNA VEZ AL DÍA EN PACIENTES CON INFECCIÓN VIH PRETRATADOS

L.F. López-Cortés, P. Viciano, R. Ruiz-Valderas, R. Contreras, R. Mata, J. Gómez-Vera y A. Alarcón

Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: Evaluación prospectiva de la farmacocinética y eficacia de la combinación de saquinavir/ritonavir (1.200/100 mg) junto con efavirenz (600 mg), una vez al día, en pacientes con infección VIH pretratados.

Método: Inclusión sin restricciones respecto a carga viral (CV), CD4 o tratamientos previos. Las concentraciones de SQV y EFV fueron determinadas mediante HPLC-UV. La eficacia se evaluó mediante intención de tratar. Fracaso virológico definido como CV > 50 copias/ml o discontinuación de tratamiento por cualquier motivo.

Resultados: se incluyeron 42 pacientes, 20 de ellos con CV < 50 copias/ml a la inclusión. Mediana de tratamiento previo con NRTIs: 54 meses, con IPs: 30 meses; fracaso virológico previo con ≥ 1 IPs en 20/42 (47%) y 9/42 (21%) con CV detectables con NNRTIs. Mediana de seguimiento: 12 meses. *Farmacocinética:* SQV: C_{max} (n = 19): 2.360 ng/ml (699-6.395 ng/ml), AUC_{0-24} (n = 19): 16.230 ng·h/ml (6.704-49.454 ng·h/ml), C_{min} (n = 32): 144 ng/ml (70-984 ng/ml). EFV: C_{max} (n = 19): 6,4 µg/ml (1,7-8,9 µg/ml), AUC_{0-24} (n = 19): 88,9 µg·h/ml (17-161,9 µg·h/ml), C_{min} (n = 32): 2,8 µg/ml (0,5-6,3 µg/ml).

Eficacia: todos los pacientes con CV < 50 copias/ml y 13/20 pacientes con CV elevadas a la inclusión permanecieron con CV indetectables durante el seguimiento. Abandonos o modificaciones de tratamiento en 5 pacientes a pesar de tener CV < 50 copias/ml. Por intención de tratar, 71% de los pacientes mantenían CV < 50 copias/ml y continuaban en tratamiento tras 52 semanas. Los fracasos virológicos estuvieron relacionados con > 1 fracaso previo con IPs y con NNRTIs (p < ,000). Mediana de incremento de CD4 a las 52 semanas: 190/µl.

Conclusiones: SQV/rtv (1,200/100 mg) + EFV (600 mg), una vez al día, tiene un perfil farmacocinético adecuado, avalado por una excelente eficacia y seguridad, configurándose como una clara opción en pacientes sin resistencias previas a estos fármacos que precisa un tratamiento libre de NRTIs.

418

PAPEL DE LOS ESTUDIOS DE RESISTENCIAS PARA MEJORAR EL TRATAMIENTO DE RESCATE CON UN RÉGIMEN QUE INCLUYE LOPINAVIR (LPV/R) EN PACIENTES CON EXPOSICIÓN A LAS TRES CLASES DE FÁRMACOS

M.J. Pérez-Eliás, I. García-Arata, V. Muñoz, S. Moreno, C. Morantes, M. Pumares, A. Moreno, A. Antela, F. Dronda y J.L. Casado

Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La respuesta virológica al tratamiento que incluye LPV/r se correlaciona con el nº de mutaciones y el nivel de resistencia fenotípica en los pacientes (Pts) sin exposición a NANITI.

Métodos: Estudio prospectivo de 75 Pts que se incluyeron en el programa de accso expandido en nuestro hospital. Todos los pacientes habían fracasado con las tres clases de drogas, incluyendo al menos un régimen de IP potenciado con RTV. En un subgrupo de pacientes el tratamiento se diseñó guiado por fenotipo real o fenotipo virtual, VIRCO® (n = 40) y se compararon con los que el tratamiento fue diseñado sin esta información (n = 35).

Resultados: *Características de los pacientes con y sin prueba de resistencias:* Media de valores de CD4 192 y 201 células/ml, ARN-VIH RNA 4,47 y 4,24 log copias/ml, adherencia > 90% (95% y 85%), meses de tratamiento antirretroviral 77 y 84. Después de 16 semanas de tratamiento, la tasa de pacientes que alcanzaron carga viral < 400 copias/ml fue similar en los dos grupos (50% vs 60%). En un análisis multivariante, la respuesta virológica se asoció con una adherencia > 90% (OR 0,07; 95 IC, 0,006-0,75; p < 0,001) y con una menor carga viral (OR, 3,43 95 IC, 1,74-6,78; p = 0,028). En los pacientes con estudio de resistencias se observó una mediana de 11,6 y 9,6 mutaciones en los genes de la RT y la PR, respectivamente. No encontramos asociación entre la respuesta virológica y el nº total de mutaciones, la presencia de mutaciones principales, el nº total de drogas sensibles y el score de potencia resistencia en el régimen de LPV/r. Cuando se ajustó por adherencia y carga viral basal, los pacientes con un score de potencia resistencia mayor presentaron mayor probabilidad de alcanzar una respuesta virológica (OR, 0,47 95 IC, 0,2-1,08; p = 0,07).

Conclusiones: En pacientes muy pretratados y exposición a todas las clases de drogas la información de resistencias tuvo poco efecto en la respuesta virológica.

419

REGÍMENES QUE INCLUYEN LOPINAVIR (LPV/R) EN PACIENTES (PTS) PRE-TRATADOS CON TODAS LAS CLASES DE FÁRMACOS

M.J. Pérez-Eliás, C. Morantes, V. Muñoz, D. López, S. Moreno, A. Antela, A. Moreno, F. Dronda, J.L. Casado y C. Quereda

Hospital Ramon y Cajal. Madrid.

Introducción: El LPV/r es un fármaco que ha proporcionado respuestas virológicas importantes y duraderas en pacientes con y sin exposición previa a fármacos. Pero no se conoce su efectividad en pacientes ya expuestos a todas las clases de fármacos.

Objetivo: Estudiar la efectividad y seguridad de los regímenes que incluyen LPV/r en pacientes preexpuestos a ANITI, NANITI e IPs.

Métodos: Estudio prospectivo de los 100 primeros pacientes que entraron en el programa expandido de LPV/r y fallo con las tres familias de fármacos.

Resultados: *Características iniciales:* 22% Mujeres, 51% ADVP, edad media 39 [20-70] años. La media de tiempo pre-

vio en ANITI, IP, y NANITI fue de 75, 34 y 16 meses, respectivamente. Se habían utilizado combinaciones potenciadas con RTV en un 78% de los pts. Globalmente un 65% tuvieron una caída superior a 0,5 log. En las semanas 12 y 24 la media de la carga viral disminuyó de 4,3 a 3,1 y 2,9 log copias/ml ($p < 0,01$), respectivamente, y los valores de CD4 aumentaron de 240 a 290 y 313 células/mcl ($p < 0,01$). Se alcanzaron cargas virales indetectables en un 54% a las 12 semanas, que se mantuvo hasta la 24 en un 52% de los pacientes. Se observaron efectos adversos en un 18%: gastrointestinales (4%), hepatitis (3%), empeoramiento de lipodistrofia (6%) y rash (3%). El colesterol medio aumentó de 186 a 199 y 205 mg/dl en las semanas 12 y 24 respectivamente ($p < 0,01$), y la media de triglicéridos aumentó de 220 a 321 y 299 mg/dl ($p < 0,01$). La tasa de cambios de tratamiento fue baja y se distribuyó como pérdidas de seguimiento (8%), fallo virológico (4%) y toxicidad (1%).

Conclusiones: Los tratamientos de rescate que incluyen LPV/r se asocian con respuestas clínicamente significativas en una proporción importante de casos. La tolerancia general fue buena pero es necesario evaluar a largo plazo la evolución de los lípidos y su impacto en el riesgo cardiovascular.

420

MAYOR DURABILIDAD DEL TARGA CON ITINAN vs IP EN PACIENTES NAIVE EN LA PRACTICA CLÍNICA

A. Moreno, M.J. Pérez-Elías, J.L. Casado, A. Antela, F. Dronza, C. Quereda, E. Navas, M. Uriarte, E. Bermúdez y S. Moreno

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivo: Comparar los resultados a largo plazo, y especialmente la permanencia en la terapia, de terapias de inicio basadas en IP vs ITINAN.

Métodos: estudio prospectivo de 256 pacientes naïve que iniciaron HAART entre abril de 1998 (disponibilidad de nelfinavir y nevirapina) y octubre de 2000, y al menos un año de seguimiento.

Resultados: Globalmente, las tasas de HAART basadas en IP vs ITINAN fueron 71% ($n = 181$, IDV $n = 87$, NFV $n = 94$), y 29% ($n = 75$, NVP $n = 51$, EFV $n = 24$). Existían diferencias significativas en la situación basal del grupo de IP vs ITINAN: CV, 5,1 vs 4,4 \log_{10} ($p < 0,0001$), CD4, 201 vs 355 cells/mcl ($p < 0,0001$) y SIDA previo, 33 vs 11% ($p < 0,001$), respectivamente.

Durante el seguimiento no hubo diferencias significativas en el incremento absoluto de CD4, valores de CV, eventos clínicos (19 vs 15%, $p = 0,4$), ingresos (18% vs 13%, $p = 0,4$) o muertes (5 vs 3%, $p = 0,5$), pero hubo una tasa de cambios significativamente mayor en el grupo de IP, (65 vs 32%, $p < 0,0001$), generalmente debidos a efectos adversos (47%), mientras que en el grupo de ITINAN la causa principal fue el fracaso virológico (46% vs 23%, $p = 0,02$). Por Kaplan-Meier, el tiempo medio para el cambio fue de 629 vs 924 días ($p < 0,00001$) para el grupo de IP y ITINAN, y la probabilidad de permanecer en el primer régimen durante el 1^{er}, 2^o y 3^{er} año fueron 67 vs 83%, 35 vs 71% y 21 vs 54%, respectivamente. En el análisis multivariante de Cox (RR 2,69; IC 95% 1,72-4,22; $p < 0,01$) sólo el haber iniciado tratamiento con IP vs ITINAN influyó de manera significativa sobre la durabilidad en la primera línea de HAART, siendo no significativos la carga viral, cifra de CD4 o diagnóstico de SIDA basales.

Conclusiones: La permanencia en la primera línea de HAART es mayor para los regímenes basados en ITINAN que en IP, independientemente del estadio basal de la infección por VIH al inicio del tratamiento. Los regímenes basados en IP se asocian con tasas de efectos adversos y de cambio significativamente mayores.

421

ANÁLISIS GENÉTICO DE GP41 EN PACIENTES VIH POSITIVOS TRATADOS CON EL INHIBIDOR DE LA FUSIÓN T-20

E. Poveda, B. Rodés, C. Toro, L. Martín y V. Soriano

Biología Molecular. Servicio de Infecciosas.

Hospital Carlos III-Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

T-20/DP178 es un nuevo fármaco inhibidor de la entrada del VIH. Hasta el momento los únicos datos de resistencias relacionados con T-20 se han obtenido en estudios *in vitro*. En la región HR1 de gp41 se han descrito dos cambios en las posiciones 36 (G36S) y 38 (V38M) que confieren resistencia impidiendo la unión del péptido, dando lugar a una secuencia SIM en lugar de la secuencia salvaje GIV altamente conservada.

Objetivo: Analizar los posibles cambios genéticos en el VIH de pacientes tratados con T-20 que fracasan con dicha terapia. **Métodos:** Se incluyeron cuatro pacientes multitratados con fracaso virológico que presentaban mutaciones de resistencias a los IPs e inhibidores de la RT. Se estudiaron muestras de cada paciente al inicio del tratamiento y durante los siguientes 9 meses. Se analizó genéticamente un fragmento de gp41 (567pb) que incluía las regiones HR1 y HR2, mediante secuenciación a fin de detectar posibles cambios en la secuencia de aminoácidos. El seguimiento de los pacientes se hizo por cuantificación de la carga viral y linfocitos CD4+.

Resultados: Al inicio del tratamiento en todos los pacientes se observó un descenso significativo de la carga viral (> 1 log). Un paciente abandonó la terapia por toxicidad al tratamiento. El resto de pacientes, fracasaron virológicamente entre los 6 y 9 meses. En ninguna de las secuencias analizadas de gp41 se encontraron los cambios de aminoácidos que se han descrito *in vitro* asociados a resistencia a T-20. En uno de los pacientes, sin embargo, se encontró un cambio G→V en la posición 36 de la región HR1 en una muestra correspondiente al fracaso. El significado de este cambio se desconoce. No se encontró ninguna secuencia de gp41 con el aa valina en la posición 36 en la base de datos del Genbank.

Conclusión: Cambios diferentes de los descritos *in vitro* en la región HR1 o bien en otros de la envuelta del VIH-1 pueden estar asociados a pérdida de sensibilidad a T-20.

422

CINÉTICA VIRAL Y RESPUESTA INMUNE EN PACIENTES VIH DURANTE INTERRUPTIONES NO PROGRAMADAS DE TARGA

R. Sánchez, A. Gimeno, J. Portilla, C. Llopis, J. Sánchez, C. Muñoz, M.L. de la Sen, V. Boix, E. Merino, J. Plazas, J.M. Murcia y M.I. Manso

Hospital General Universitario de Alicante. Alicante.

Objetivo: Estudiar la respuesta inmune específica, cinética celular y viral, y cambios en el genotipo viral tras la supresión de TARGA en pacientes con infección crónica VIH.

Material y métodos: Pacientes VIH con TARGA y CVP < 50 copias de RNA/mL durante 6 meses, en los que se suspende TARGA durante al menos 4 semanas. CVP y subpoblaciones linfocitarias fueron estudiadas los días 3(t_3),7(t_7),14(t_{14}),21(t_{21}) y 28(t_{28}) tras la suspensión. El genotipo viral y test de proliferación linfocitaria(LP) a antígenos VIH-1 se realizó el día 28. Los resultados se expresaron en medianas y P25-75.

Resultados: 20 pacientes (75% varones, 45% UDVP) fueron incluidos en el estudio, con una edad de 40 (37-46) años y CVP suprimida 16 meses (6-32) previos. El total de fármacos recibidos fue de 4(3-7). Causas de suspensión del TARGA incluyeron: toxicidad (70%), cáncer (10%), tuberculosis (10%) y decisión del paciente (10%). La evolución de la CVP expresadas en U logarítmicas fue: En t_1 ,0, t_3 ,3, t_7 se mantuvo una CVP indetectable; CVPt₁₄:2(0-4); CVPt₂₁:4(2-5); CVPt₂₈:5(3-5). En 3/20 pacientes la CVP se mantuvo suprimida durante

28 días. Se observó una disminución de células CD4+ del 2% de 478/mm³ (96-715) a 257/mm³ (18-663) en t₂₈ (p = NS) y un incremento de CD8+ del 26% con significación estadística en CD8-28+ (p = 0,04) y CD8-38+ (p = 0,0001). El LP fue negativo el día de la suspensión del tratamiento, detectándose una actividad proliferativa en 4/16 pacientes en t₂₈. Se detectaron resistencias primarias en 3/15 pacientes (M184V, K103V en 2 pacientes y V106A/V); y una mediana de 1,9 resistencias secundarias en 14/15 pacientes (L63P en un 60%). **Conclusiones:** En pacientes con infección VIH crónica con CVP indetectable, que precisan una interrupción de TARGA por toxicidades u otras razones no se produce una disminución significativa de los CD4+ ni desarrollo de resistencias durante un periodo de suspensión de 4 semanas.

423

RESPUESTA VIRO-INMUNOLÓGICA A LA INTERRUPTIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL A PACIENTES CON SUPRESIÓN VIROLÓGICA MANTENIDA

R. Mata, P. Viciano, L.F. López Cortés y M.J. Gómez Vera
Hospital Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivos: Analizar la evolución de la carga viral (CV) de VIH y los valores de CD4+ tras la interrupción de tratamiento antirretroviral (TAR), así como la respuesta de ambos parámetros en aquellos que reinician el TAR.

Métodos: Se incluyeron pacientes en TAR, con CD4+ > 500 y RNA-VIH < 200c/ml durante más de 6 m, que aceptaban participar. Se realizó control clínico y analítico basal (RNA-VIH, CD4+, y perfil lipídico) y al 1, 2, 3 y cada 3 m tras la interrupción del TAR (IT). Se reinició TAR si la CV fue > 50.000 c/ml en 2 determinaciones sucesivas, y/o los CD4+ < 350, y/o por solicitud del paciente. Tras reiniciar el TAR, se efectuó control al 1, 3 y 6 m.

Resultados: Se incluyeron 88 pacientes, 65 varones y 23 mujeres. Edad media = 36,16 ± 6,38 años. Riesgo de VIH: 39,8% UDVP, 27,3% homo, 27,3% hetero. La duración media del TAR antes de la IT fue de 49,73 ± 26,6 m (rango 7-128). El tiempo medio de CV indetectable antes de la IT fue 26,08 ± 10,81 m (rango 6-47). El nadir de CD4+ fue de 334 ± 167 y la media de CD4+ en el momento de la IT de 932, ± 280 (rango 517-1.835). Permanecieron sin reiniciar TAR: a los 3 m el 85,7% de los pacientes, a los 6 m el 56,1%, a los 9 m el 44,5%, a los 12 m el 33,3% y a los 18 m el 24,6%. El descenso medio de CD4+ tras la IT fue de 204 ± 293 al mes, de 283 ± 335 a los 3 m, de 216 ± 295 los 6 m, de 290 ± 349 a los 9 m, y de 168 ± 270 a los 12 m. Tras reiniciar el TAR se alcanzó CV < 200 c/ml en el 87,8% a los 3 m y en el 89,8% a los 6 m. La ganancia de CD4+ tras el reinicio fue de 250 ± 255 a los 3 m, y de 333 ± 270 a los 6 m.

Conclusiones: El 33,3% de los pacientes que realizaron IT permanecieron sin TAR al año, al no alcanzar criterios de reinicio. La caída de CD4+ se produjo generalmente en el 1º-2º mes de IT, estabilizándose después. La IT se manifiesta como una estrategia terapéutica segura, ya que tras el reinicio de TAR se consigue indetectabilidad de la CV en la mayoría de los pacientes (89,8%) a los 6 meses y un incremento continuado de los CD4+.

424

INTERRUPTIÓN DEL TARGA EN LA PRACTICA CLÍNICA

A. Rodríguez Guardado, J.A. Maradona, J.A. Carton, V. Asensi y J.M. Arribas

Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Central de Asturias.

Propósito: Describir las consecuencias de la suspensión de la TARGA en un grupo de pacientes infectados por el VIH no seleccionados.

Métodos: Se estudió la evolución de 38 pacientes (de un total de 297) con los siguientes requisitos: experiencia previa con TARGA, abandono de forma voluntaria del TARGA durante un mínimo de 30 días, y reanudación posterior al menos durante otros 30 días.

Resultados: Los pacientes abandonaron el tratamiento por una media de 280 ± 161 días (rango 30-789). En el momento de iniciar el tratamiento los pacientes presentaban un recuento de linfocitos CD4+ de 200 ± 169 células/mm³ (10-763) y una carga viral de 734.293 ± 1.901.974 (rango 1.000-8.380.000) copias de RNA/ml. Justamente al abandonar el tratamiento todos los enfermos excepto tres habían experimentado una respuesta completa al mismo, presentando unas cargas virales de 4.309 ± 18.998 (rango 50-116.663) copias de RNA/ml y unos linfocitos CD4+ 322 ± 183 (rango 60-860) células/mm³. Tras la suspensión los pacientes experimentaron una caída media del 30% en su cifra previa de linfocitos CD4+, presentado en el momento de reanudar el tratamiento una carga viral de 199.487 ± 374.577 (1.412-2.120.000) copias RNA/ml y unos linfocitos CD4+ 299 ± 173 (0-704) células/mm³. A los tres meses de reintroducido el tratamiento todos los enfermos excepto dos experimentaron una respuesta completa al mismo presentando cargas virales de 800 ± 1.646 (rango 130-6.840) y un aumento de CD4+ similar al obtenido antes de la suspensión 315 ± 163 (125-704) células/mm³. No se encontraron diferencias significativas entre los CD4+ y la carga viral que presentaban los pacientes antes de iniciar el tratamiento y tras la suspensión. No se produjo ningún fallecimiento.

Conclusiones: Tras una suspensión prolongada de TARGA los enfermos tienden a mantenerse en los niveles virológicos e inmunológicos previos al inicio del tratamiento. Un 16% de los enfermos experimentaron deterioro clínico en el periodo de suspensión.

425

HEPATOTOXICIDAD ASOCIADA A LA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL EN PACIENTES VIH: FACTORES PREDICTORES Y SEVERIDAD

M.E. Moreno, M. Rivero, A. Moreno, M. Uriarte, S. Diz, A. Antela, L. Moreno, C. Quereda y S. Moreno

Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: Investigar la incidencia y severidad de hepatotoxicidad tras el inicio de terapia antirretroviral de gran actividad (TARGA). Determinar los posibles factores predictores de toxicidad hepática (TH).

Métodos: Estudio prospectivo de una cohorte de 221 pacientes que inician TARGA desde enero de 1997, con un seguimiento clínico regular de al menos 12 meses. Las pruebas de función hepática se evaluaron pre-TARGA y posteriormente cada 3 meses. La TH se gradó según la escala de la OMS, considerando TH severa los grados 3 y 4.

Resultados: *Características basales:* mujeres 27%, mediana de edad 35 años (31-39), exADVP 58%, SIDA previo 29%, mediana de CD4 186 células/mm³ (77-351), mediana de RNA-VIH 5 log (4,5-5,5). *Enfermedad hepática pretratamiento:* AcVHC+ 62%, HbsAg+ 5%, mediana GPT 39 (21-73), mediana GOT 36 (23-62). *Desarrollo de TH:* 34 (15,4%) pacientes desarrollaron TH severa, esto supone una incidencia de 6,9/100 pacientes-año. Sólo en 9 casos la TARGA fue suspendida por esta causa y la mayoría (6 de 9) sucedieron en los 6 primeros meses tras el inicio de la TARGA. Las alteraciones de la función hepática fueron reversibles en todos los pacientes y no se encontraron diferencias significativas en cuanto a evolución inmuno-virológica entre los pacientes que desarrollaron o no TH. La incidencia de TH varía en función del fármaco administrado, entre el 3,96 casos/100 pacientes-año de nelfinavir y los 19,03 casos/100 pacientes-año de nevirapina. En el análisis univariante, la coinfección por VHC, el incremento basal de GOT/GPT, el ser exADVP y el trata-

miento con nevirapina y saquinavir se asociaron con el desarrollo de hepatotoxicidad. Sin embargo, en el análisis multivariante, únicamente el incremento basal de GOT/GPT (RR, 1,01; IC95% 1,01-1,02) fue factor predictor independiente de TH.

Conclusiones: Una proporción significativa de pacientes puede desarrollar TH, pero las consecuencias clínicas no parecen ser relevantes. Sólo los pacientes con elevación basal de GOT/GPT están en riesgo de desarrollar TH severa.

425 bis

HEPATOTOXICIDAD PRODUCIDA POR TRATAMIENTOS CON NO ANÁLOGOS INHIBIDORES DE LA TRANSCRIPTASA INVERSA (NNITI)

J. Ena, F. Pasquau, C. Amador, C. Benito, V. Martínez-López y V. Fenoll

Hospital Marina Baixa. Villajoyosa. Alicante.

Objetivos: La hepatotoxicidad grave (elevación superior a 5 veces los valores basales de GOT o GPT) producida por tratamientos con inhibidores de la proteasa (IP) ha sido analizada, sin embargo la producida por NNITI ha recibido menor atención. Por ello, analizamos los factores de riesgo asociados con hepatotoxicidad grave producida por combinaciones de NNITI.

Métodos: Entre ene-97 y dic-00 un total de 136 pacientes (pts) con infección por VIH fueron tratados con combinaciones de NNITI, de los cuales 108 (79%) mostraron adherencia. Nevirapina (NVP) se combinó con dos análogos nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa (ANITI) en 50 pts y con IPs + ANITI en 20 pts. Efavirenz (EFV) se combinó con 2 ANITI en 34 pts y con IPs + ANITI en 4 pts. Un total de 52 (48%) pts mostraban anticuerpos frente a VHC.

Resultados: Tras una mediana de seguimiento de 127 días, 6 (11%) de 56 pacientes VHC negativo y 15 (31%) de 52 pacientes VHC positivo desarrollaron hepatotoxicidad grave (RR: 2,87, IC95% 1,22-6,78, $p = 0,009$). No observamos diferencia en la incidencia de hepatotoxicidad en las combinaciones de NVP + EFV con ANITI. Sin embargo, la combinación de NVP + IP + ANITI se asoció significativamente con hepatotoxicidad grave (RR: 4,79, IC95% 1,56-14,71, $p = 0,001$). Tras suspender el tratamiento todos los pts mejoraron su grado de citolisis.

Conclusiones: La presencia de anticuerpos frente a VHC incrementa el riesgo de hepatotoxicidad grave producida por combinaciones de NNITI. Las combinaciones de NVP y EFV con ANITI presentan un riesgo similar de hepatotoxicidad grave. La asociación entre NVP + IP + ANITI y hepatotoxicidad grave requiere ser evaluada en estudios prospectivos.

426

DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE EMBARAZADAS INFECTADAS POR HIV ENTRE 1995 Y 2000

E. Caballero, E. Sulleiro, M.T. Tortola, M.N. Larrosa, I. Ruiz* y M. Casellas**

*Servicio de Microbiología, *Enfermedades Infecciosas y **Obstetricia. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.*

Objetivo: Las mejoras introducidas en el diagnóstico, seguimiento y TAR de la infección por HIV en el embarazo han producido un descenso importante de la transmisión vertical (TV). El objetivo ha sido revisar los casos de infección por HIV en gestantes atendidas en nuestro centro entre 1995-2000.

Métodos: Detección de anticuerpos anti HIV por VIDAS HIV y confirmación por WB. Determinación de CVP de HIV-1 por NASBA. Detección de antígeno p24 de HIV-1 por Viro-nostika HIV-1 Antigen.

Resultados: Se han estudiado 115 gestantes HIV+ (55 ILE, 10 sin seguimiento). En 23 casos el diagnóstico se hizo durante el embarazo. De las 50 pacientes cuya gestación finalizó en parto vaginal (11) o cesárea (39), la infección por HIV se diagnosticó durante el embarazo en 16 casos. La mayoría eran ex o ADVP (24) o habían adquirido la infección por c. sexual (15). No se produjo TV en 43 casos y sí en 2 (2 partos), en 5 se desconocía. La CVP inicial fue < 1.000 en 20 (7 indetectable), 1.000-10.000 en 15 y > 10.000 en 20. Al final del embarazo la CVP era < 1.000 en 26 (17 indetectable), 1.000-10.000 en 6 (TAR y noTV en 6) y > 10.000 en 3 (TAR y no TV en 3). El Ag p24 fue positivo en 2 pacientes (No TAR y TV en 1). 30 de las pacientes no habían recibido TAR previo al embarazo o no constaba y de las 20 tratadas, 14 habían recibido ZDV sola o combinada. En el embarazo, 6 no recibieron o no constaba TAR (TV en 2, sin datos 2); de las 44 tratadas, 18 recibieron mono/biterapia que incluía ZDV (en 5 se cambió a TARGA) y 26 TARGA. Recibieron terapia con ZDV durante el parto 45 pacientes. En 42 de los 45 casos en que se practicó cesárea y/o se administró algún TAR no hubo TV (3 desconocido). 4 pacientes presentaban un recuento de CD4+ < 200 (1 de ellas no tratada y en la que hubo TV).

Conclusiones: Entre 1995-2000, el diagnóstico de infección por HIV se realizó durante la gestación en el 20% de los casos (23/115) y la TV fue del 4,4% (2/45). En el 97,7% (42/43) de los embarazos en los que no se produjo transmisión vertical de HIV-1 se había practicado cesárea y/o recibido TAR.

427

EVOLUCIÓN DE LA INFECCIÓN DEL VIH-1 POR TRANSMISIÓN VERTICAL EN ESPAÑA (1993-2000)

L. Muñoz*, I. Noguer** y A. García-Sáiz*

**CNM. ISCIII, Majadahonda. **Secretaría del Plan Nacional sobre el Sida, Madrid.*

Objetivo: En este estudio pretendemos identificar las tasas de transmisión vertical (TV) del VIH-1 en España y su evolución entre 1993 y 2000, mediante el análisis de los resultados del diagnóstico viral.

Métodos: El estudio incluye a 1.334 niños menores de un año nacidos de madres infectadas con el VIH-1 entre 1993 y 2000. Se analizaron muestras de sangre completa remitidas para su diagnóstico al Servicio de Retrovirus del Centro Nacional de Microbiología. El diagnóstico se realizó mediante técnicas de detección de replicación viral: aislamiento del virus y PCR del ADN proviral. Se consideraron infectados los niños con aislamiento viral y/o PCR positivos en dos muestras diferentes. Se consideraron no infectados aquellos niños con aislamiento viral y/o PCR negativos en al menos dos muestras, una de ellas obtenida a partir del tercer mes de edad. Los casos que no cumplieron estos requisitos se consideraron indeterminados. Las tasas de transmisión global y para cada año se han calculado con el Intervalo de Confianza al 95% mediante el método exacto binomial. Para analizar la tendencia se aplicó la prueba de χ^2 .

Resultados: Las tasas de TV encontradas de 1993 a 2000 fueron de 20,9%, 16,3%, 12,5%, 13,2%, 5,5%, 6,4%, 11% y 3,6% respectivamente. La tasa de transmisión global del periodo 1993-2000 fue del 11,2%. La evolución de las tasas de TV en el periodo fue descendente, mientras que la de casos indeterminados fue inversa. Una proporción indefinida de los casos indeterminados pasarán a ser positivos, por tanto las tasas obtenidas para el año 2000 deben considerarse inferiores a las reales.

Conclusiones: 1) La tasa de TV del VIH-1 en España durante el año 2000 se estima superior a 3,6%. 2) La incidencia de la TV en España desciende. 3) La monitorización de la incidencia de TV del VIH-1 en España requiere la colaboración de todos los hospitales e investigadores, dado el escaso número de casos locales para analizar tendencias.

Sesión 20 Antifúngicos

428

SUSCEPTIBILIDAD A LOS AGENTES ANTIFÚNGICOS DE LEVADURAS AISLADAS DE EXUDADOS VAGINALES

M.J. Linares, F. Solís, F.C. Rodríguez y M. Casal
Departamento de Microbiología. Facultad de Medicina.
H.U. Reina Sofía. Córdoba.

Objetivo: Determinar las especies de organismos levaduriformes más frecuentemente aislados a partir de exudados vaginales y su susceptibilidad *in vitro* a cinco antifúngicos.

Material y métodos: Se incluyeron en el estudio todas las especies aisladas a partir de exudados vaginales, desde enero a octubre del 2001. La identificación se llevó a cabo mediante la determinación del color de la colonia tras el aislamiento y/o cultivo en el medio de CHROMagar *Candida* y métodos bioquímicos convencionales. El estudio de sensibilidad se realizó utilizando un test de microdilución en placa, que detecta la CMI de fluconazol (FL), itraconazol (IT), ketoconazol (KT), anfotericina B (AB) y 5-fluorocitosina (5F).

Resultados: Se identificaron un total de 529 cepas de organismos levaduriformes. El orden de frecuencia de estas especies fue: *C. albicans* (425/80%), *C. glabrata* (63/12%), *C. parapsilosis* (18/3%), *C. krusei* (6/1%), *C. tropicalis* (6/1%), *C. famata* (3), *C. guilliermondii* (2), *C. lusitanae* (2), *Rhodotorula glutinis* (2), *R. mucilaginosa* (2), *C. rugosa* (1), *Saccharomyces cerevisiae* (1). El 12% de los cultivos fueron cultivos mixtos, en el 92% de ellos se aislaron *C. albicans* mas *C. glabrata*. Anfotericina B fue la droga mas activa frente a todas las cepas testadas con una CMI90 de 0,25 mg/L. Respecto a *C. albicans* el orden de actividad de los diferentes antifúngicos, basados en los resultados de la CMI fue: AB (CMI90, 0,25 mg/L) > 5F (CMI90 0,5 mg/L) > KT (CMI90, 1mg/L) > IT (CMI90, 2mg/L) > FL (CMI90, 32 mg/L). La CMI90, de los imidazoles frente a *C. glabrata* fueron: 256 (FL), 16 (IT) y 1 (KT).

Conclusiones: *C. albicans* y *C. glabrata* fueron las especies mas frecuentemente aisladas, a veces incluso asociadas. Un numero elevado de cepas de *C. albicans* se manifiestan resistente *in vitro* a itraconazol.

429

ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DE CANDIDA SPP. A VORICONAZOL: ETEST VERSUS MICRODILUCIÓN

M.C. Serrano, M. Chávez, A. Valverde, R. Claro, M. Ramírez, D. Morilla, S. Bernal y E. Martín-Mazuelo
Servicio Microbiología. H.U. Valme. Sevilla.

Objetivo: Comparar las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) de voriconazol (V) obtenidas por el método del Etest y por el método de referencia (NCCLS, documento M27A) para *Candida* spp.

Material y métodos: Se ha estudiado la sensibilidad a V de 168 *C. albicans*: 101 S a fluconazol (F), 31 SDD y 36 R, 26 *C. glabrata* y 9 *C. tropicalis*, usando el método de microdilución (MD) y el método del Etest (AB Biodisk, Sweden). Las CMI por el método del Etest fueron determinadas en RPMI 1.640 + 2% de glucosa (Izasa) a las 24 h y 48 h. La CMI para el método de MD fue definida como la menor concentración de antifúngico que produjo una inhibición del crecimiento del 80%, la lectura fue a las 24 h. El rango de concentraciones ensayadas de V por MD fue de 0,03-16 µg/ml, por Etest fue de 0,012-32 mg/l. Cepas QC ATCC: *C. krusei* 6258, y *C. parapsilosis* 22019.

Resultados: La MIC_{50/90} a las 24 h y 48 h por Etest para las diferentes especies fue: *C. albicans*: S a F (101) ≤ 0,03/≤ 0,03

y ≤ 0,03/0,06, SDD a F (31) 0,06/0,12 y 0,06/0,5, R a F (36) 0,06/1 y 0,12/2, Total (168) ≤ 0,03/0,12 y 0,03/0,5. *C. glabrata* (26) 0,12/0,25 y 0,5/2. *C. tropicalis* (9) 0,12/0,25. Total (203) ≤ 0,03/0,25 y 0,06/1. La MIC_{50/90} a las 24 h por MD para las diferentes especies fue: *C. albicans*: S a F (101) ≤ 0,03/0,06, SDD a F (31) 0,06/0,5, R a F (36) ≤ 0,03/0,5, Total (168) ≤ 0,03/0,12. *C. glabrata* (26) 0,12/0,25. *C. tropicalis* (9) ≤ 0,03/0,12. Total (203) ≤ 0,03/0,12. Los % de correlación Etest/MD ± 2 diluciones 24 h/24 h y 48 h/24 h fueron: *C. albicans* S a F 98 y 94, SDD a F (31) 96,7 y 90, R a F (36) 91,6 y 88,8, total 96,4 y 92,2. *C. glabrata* 84,4 y 46. *C. tropicalis* 88,8 y 66,6. Total (203) 95 y 85,2.

Conclusiones: 1) Los resultados sugieren la utilidad del Etest como método alternativo para el estudio de la sensibilidad de *Candida* spp. a voriconazol. 2) Por ambos métodos se observan valores mayores de CMI₉₀ para *C. albicans* SDD y resistente a fluconazol. 3) El valor clínico de estos resultados *in vitro* deben ser estudiados en ensayos clínicos.

430

ACTIVIDAD IN VITRO DE VORICONAZOL Y FLUCONAZOL SOBRE LEVADURAS PROCEDENTES DE HEMOCULTIVO

J. Pemán, E. Cantón, A. Orero, A. Molina, A. Viudes y M. Gobernado
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Fe, Valencia.

Objetivos: Determinar la actividad antifúngica de voriconazol (VZ) y fluconazol (FZ) en diferentes especies de levaduras aisladas en hemocultivo.

Métodos: Se analizaron un total de 143 cepas de levaduras (65 *C. albicans*, 52 *C. parapsilosis*, 9 *C. tropicalis*, 10 *C. glabrata*, 3 *C. krusei*, 2 *C. famata*, 1 *C. guilliermondii* y 1 *Y. lipolytica*) procedentes de hemocultivos. La CMI se determinó por el método M27-A, la lectura se realizó, a las 24 y 48 h de incubación, visual y espectofotométricamente. La CMI para ambas lecturas fue la menor concentración de antifúngico que inhibió el ≥ 50% de crecimiento respecto al control.

Resultados: Los intervalos de la CMI de VZ/FZ fueron: *C. albicans* 0,004-> 2/0,06-64; *C. parapsilosis* 0,004-> 2/0,12-64; *C. tropicalis* 0,06-> 2/1-64; *C. glabrata* 0,03-> 2/0,12-64; *C. krusei* 0,06/16-32; *C. famata*, 0,12-0,5/2-4; *C. guilliermondii* 0,016/1 y *Y. lipolytica*, 0,03-16. La CMI₅₀/CMI₉₀ de VZ para *C. albicans* fue: 0,5/> 2; *C. parapsilosis* 0,016/0,12; *C. tropicalis* 0,5/> 2; *C. glabrata* >2/> 2, *C. krusei* 0,06/0,06. La CMI₅₀/CMI₉₀ de FZ para *C. albicans* fue: 0,25/8; *C. parapsilosis* 1/2; *C. tropicalis* 2/64; *C. glabrata* 4/64 y *C. krusei* 16/32. Las especies más sensibles a VZ fueron *C. parapsilosis* y *C. krusei*. *C. albicans* presentó un crecimiento mantenido a concentraciones elevadas de VZ lo que dificultaba su lectura visual, precisando la lectura espectofotométrica para la determinar el punto de corte. La CMI₅₀/CMI₉₀ de VZ para *C. albicans* fue: 0,5/> 2; *C. parapsilosis* 0,016/0,12; *C. tropicalis* 0,5/> 2; *C. glabrata* >2/> 2 y *C. krusei* 0,06/0,06. Las cepas *C. albicans* resistentes a FZ también lo fueron a VZ; por el contrario, las cepas de *C. parapsilosis* resistentes a FZ, fueron sensibles a VZ.

Conclusiones: VZ presenta muy buena actividad sobre *C. parapsilosis* y *C. krusei*. Para determinar la sensibilidad de *C. albicans* a VZ se recomienda utilizar la lectura espectofotométrica previa agitación de los pocillos.

431

RESISTENCIA A ANTIFÚNGICOS DE AISLADOS DE CANDIDA SPP DE HEMOCULTIVOS EN UN PERÍODO DE 5 AÑOS

D. Velasco, E. Gil, F. Molina, R. Villanueva, R. Moure y M.T. Durán
Servicio de Microbiología. C.H. Juan Canalejo. A Coruña.

Objetivo: Estudiar la sensibilidad a antifúngicos de los aislados de *Candida* spp de hemocultivos en el período enero de 1997 a octubre de 2001 en nuestro hospital.

Métodos: Se consideró un aislado/episodio de candidemia/paciente. En total se aislaron 54 *Candida* spp: 22 *C. parapsilosis*, 20 *C. albicans*, 5 *C. glabrata*, 3 *C. krusei*, 2 *C. tropicalis* y 2 *C. guilliermondii*.

Las CMI de anfotericina B (AB), fluconazol (FLU), itraconazol (ITRA) y 5-flucitosina (5FC) se determinaron por el método de microdilución en caldo Sensititre/Alamar Yeast One (IZASA), siguiendo la metodología NCCLS (M27 A) para los 54 aislados.

Resultados: No hubo ningún aislado resistente a AB. La resistencia a FLU fue 5,5%. Sólo los tres aislados de *C. krusei* fueron resistentes a FLU, aunque cuatro de los cinco aislados de *C. glabrata* fueron sensibles dependiendo de la dosis (S-DD) con CMI > 8 µg/ml. La resistencia a ITRA fue 7,5% y se dio en cuatro de las cinco *C. glabrata*. Estos cuatro aislados fueron S-DD a FLU, presentando por tanto esta especie de *Candida* resistencia cruzada entre ITRA y FLU. Seis aislados (2 *C. krusei*, 2 *C. guilliermondii*, 1 *C. parapsilosis* y 1 *C. tropicalis*) fueron S-DD a ITRA. La resistencia global a 5FC fue 1,8%. Sólo 1 *C. parapsilosis* fue resistente. Dos aislados (1 *C. guilliermondii* y 1 *C. krusei*) presentaron resistencia intermedia.

Conclusiones: La resistencia a antifúngicos de especies de *Candida* aisladas de hemocultivos en nuestro hospital es baja. No hubo ningún aislado resistente a AB. La resistencia o sensibilidad disminuida a FLU (CMI > 8 µg/ml), principal azol utilizado en terapia antifúngica de la candidemia, se presentó en 13% de los aislados estudiados, y afectó a 100% de *C. krusei* y 80% de *C. glabrata*.

432

CRIBADO DE CANDIDA SPP CON SENSIBILIDAD DISMINUIDA A FLUCONAZOL MEDIANTE CHROMAGAR-CANDIDA CON FLUCONAZOL

D. Canle, D. Velasco, M. Tomás, F. Molina, R. Villanueva y M.T. Durán

Servicio de Microbiología. C.H. Juan Canalejo. A Coruña.

Objetivo: Estudiar la validez del método CHROMagarCandida con fluconazol (Patterson) en la detección de *Candida* spp con sensibilidad disminuida a fluconazol. Correlación con el método de microdilución (SENSITITRE/ALAMAR YEAST ONE, IZASA) utilizado en nuestro laboratorio.

Métodos: Se estudiaron 59 aislados clínicos y dos cepas control de *Candida* spp: 23 *C. albicans*, 23 *C. parapsilosis*, 6 *C. glabrata*, 3 *C. krusei*, 2 *C. tropicalis*, 2 *C. guilliermondii*, *C. krusei* ATCC6258 y *C. parapsilosis* ATCC22019. Se prepararon placas de CHROMagarCandida con 8 µg/ml de fluconazol. Se sembraron en paralelo placas de CHROMagar con y sin fluconazol con una suspensión 0,5 de McFarland de cada aislado. La lectura de crecimiento se realizó después de 48 h de incubación a 37 °C.

Se consideraron sensibles a fluconazol los aislados que no crecían en la placa o que formaban colonias diminutas en relación con la placa control libre de fluconazol. Cuando las colonias en ambas placas eran de semejante tamaño los aislados se clasificaron como no sensibles. Los resultados se compararon con las CMI obtenidas en los paneles SENSITITRE.

Resultados: Los aislados dieron un rango de CMI entre ≤ 0,125 y 32 µg/ml. Los 10 aislados con CMI ≥ 8 µg/ml fueron clasificados como no sensibles mediante la placa de CHROMagar con fluconazol. (Sensibilidad = 100%). De los 51 aislados con CMI < 8 µg/ml 49 fueron clasificados como sensibles mediante la placa de CHROMagar con fluconazol. (Especificidad = 96,0%). Correlación entre métodos = 96,7%.

Conclusiones: El método de CHROMagar-Candida con 8 µg/ml de fluconazol puede ser adecuado en el cribado de cepas de *Candida* con sensibilidad disminuida a fluconazol. Con las especies más frecuentes en nuestro hospital, (*C. albicans* y *C. parapsilosis*), el método presentó concordancia absoluta. Son necesarios estudios con mayor número de cepas especialmente con especies menos frecuentes.

433

SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA DE LEVADURAS AISLADAS EN INFECCIONES SISTÉMICAS

M. Soler, S. Hernáez, M. Lamata, M. Fernández, J.L. Del Pozo y M. Rubio

Servicio de Microbiología Clínica. Clínica Universitaria de Navarra. Pamplona.

Objetivo: Analizar el patrón de sensibilidad de diferentes levaduras por dos métodos: Difusión en placa y sistema YEAST ONE (Sensititre).

Material y métodos: Se emplearon 25 levaduras aisladas de muestras clínicas de pacientes con infección sistémica, que correspondían a hemocultivo (11), biopsia pleural (4), líquido ascítico (3), bilis (2), catéter (2), absceso hepático (2) y absceso pancreático (1). Las levaduras fueron identificadas mediante estudio de la morfología y pruebas de asimilación y fermentación, sensibilidad a cycloheximida e hidrólisis de la urea. Las especies identificadas fueron: *Candida albicans* (10), *C. parapsilosis* (4), *Saccharomyces cerevisiae* (3), *C. glabrata* (2), *C. famata* (1), *C. pseudotropicalis* (1), *C. lusitanae* (1), *C. tropicalis* (1), *C. krusei* (1) y *Cryptococcus uniguttulatus* (1). Se estudió la sensibilidad *in vitro* de las citadas levaduras frente a: Anfotericina B, Fluconazol, Itraconazol, Ketoconazol y 5-Fluorocitosina, por los métodos de difusión en placa y YEAST ONE (Sensititre).

Resultados: La lectura de las pruebas del método de difusión se realizó midiendo el diámetro del halo de inhibición y la de las placas "Sensititre" según los criterios NCCLS M27-A. El intervalo de la CMI de Anfotericina B fue 0,03-0,125 µg/ml (CMI modal: 0,06 µg/ml), por lo que todas resultaron sensibles. El intervalo de la CMI del Fluconazol fue 0,125-64 µg/ml (CMI modal: 0,5 µg/ml), 5 cepas presentaron CMI dosis dependiente, y una fue resistente. El intervalo de la CMI del Itraconazol fue 0,008-2 µg/ml (CMI modal: 0,06 µg/ml), dos cepas fueron resistentes y 4 presentaron CMI dosis dependiente. El intervalo de la CMI del Ketoconazol fue 0,008-2 µg/ml (CMI modal: 0,008 µg/ml), una cepa fue resistente y otra intermedia. El intervalo de la CMI de la 5-Fluorocitosina fue 0,03-16 µg/ml (CMI modal: 0,03 µg/ml), dos cepas fueron intermedias. Por el método de difusión en placa, todas las cepas resultaron sensibles a Anfotericina B y a 5-Fluorocitosina, 4 fueron resistentes y 2 intermedias a Fluconazol, 4 intermedias y una resistente a Itraconazol y 3 intermedias a Ketoconazol.

434

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD FUNGICIDA DE ANFOTERICINA B EN LEVADURAS

E. Cantón, J. Pemán, J. Frasset, J. Cano, A. Viudes y M. Gobernado

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Fe Valencia.

Objetivos: Determinar la actividad fungicida de anfotericina B en diferentes especies de *Candida* aisladas en hemocultivo.

Métodos: Se analizaron un total de 173 cepas de levaduras (27 *C. albicans*, 104 *C. parapsilosis*, 13 *C. tropicalis*, 14 *C. glabrata* y 15 *C. krusei*) procedentes de hemocultivos de pacientes ingresados en el hospital La Fe. La CMI fue determinada según las indicaciones del NCCLS (M27-A) utilizando dos inóculos: 0,5-5 x 10³ y 0,5-5 x 10⁴ UFC/ml. Para determinar la concentración mínima fungicida (CMF) se sembró todo el volumen de los pocillos sin crecimiento visible de la CMI, determinada con el inóculo más elevado, en placas de agar glucosado de Sabouraud. La CMF se define como la concentración más baja que inhibe al 99,9% del inóculo.

Resultados. Las CMI no variaron significativamente (± 1 dilución) con los dos inóculos empleados. Los intervalos de la

CMI/CMF fueron: *C. albicans*, 0,12-0,5/0,25-2; *C. parapsilosis*, 0,5-2/0,5-64; *C. tropicalis*, 1-4/1-16; *C. glabrata*, 2-4/2-32 y *C. krusei*, 0,5-1/0,5-16. La media geométrica de la CMI/CMF fue: *C. albicans*, 0,35/0,5; *C. parapsilosis*, 1,02/3,18; *C. tropicalis*, 2,47/7,58; *C. glabrata*, 2,97/6,24 y *C. krusei*, 1,0/2,75. Las especies más resistentes fueron *C. glabrata* y *C. tropicalis*. El porcentaje de cepas en las cuales la CMF fue $\leq 2 \times$ CMI fue: *C. albicans*, 96,3%; *C. parapsilosis*, 60,6%; *C. tropicalis*, 61,5; *C. glabrata*, 71,4% y *C. krusei*, 40,0%.

Conclusiones: Debido al elevado porcentaje de cepas no-*albicans* con CMF $> 4 \mu\text{g/ml}$, en aquellas infecciones producidas por estas especies que requieran la eliminación completa del agente infeccioso (p.e. endocarditis) se debería determinar la CMF, en lugar de la CMI.

435

COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS DE SUSCEPTIBILIDAD DE LEVADURAS FRENTE AL ÁCIDO BÓRICO

L. Otero, V. Palacio, F.J. Méndez y F. Vázquez

Servicios de Microbiología de los Hospitales de Cabueñes, Gijón. Monte Naranco, Oviedo.

Objetivos: El ácido bórico es un compuesto fungiestático que se emplea en el tratamiento de las candidiasis vulvovaginales recurrentes y que ha sido propuesto en las vulvovaginitis producidas por especies no *albicans*. No existe metodología estandarizada para la realización de pruebas de susceptibilidad al ácido bórico. En este trabajo comparamos tres metodologías para determinar cual es la mas apropiada.

Métodos: Se estudiaron 37 *Saccharomyces cerevisiae*, 25 *Candida glabrata*, 8 *C. parapsilosis*, 2 *C. guilliermondii*, y 1 *C. famata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* y *Trichosporon* sp. procedentes de mujeres prostitutas con vulvovaginitis que acudieron a la consulta de ETS del Hospital Monte Naranco de Oviedo. En cada aislamiento se determinó la CMI al ácido bórico mediante: 1) dilución en agar con alta densidad de inóculo (DAAD). 2) Dilución en agar con baja densidad de inóculo (DABD). 3) Microdilución en caldo (MDC) siguiendo las recomendaciones del NCCLS M27-A. En los tres casos el inóculo fue ajustado mediante espectrofotómetro. Se consideró concordancia cuando la diferencia de CMI obtenida por diferentes métodos es menor o igual a dos diluciones.

Resultados: La concordancia entre DAAD y DABD fue del 100%. Entre DABD y MDC fue igualmente del 100%. Entre DAAD y MDC la concordancia fue del 83%, presentando discrepancias 12 cepas (92%) de *C. glabrata* y 1 cepa de *S. cerevisiae*. En todos estos casos la mayor CMI siempre se obtuvo con DAAD. La lectura de los métodos de dilución en agar se ve dificultada por la presencia de microcolonias, siendo más sencilla en el caso de MDC.

Conclusiones: Existe una elevada concordancia entre los tres métodos estudiados, pero debido a la más fácil lectura de los resultados y a su extendida implantación en los laboratorios de microbiología clínica, la microdilución en caldo es el método mas apropiado para determinar la susceptibilidad de levaduras al ácido bórico.

436

CORRELACIÓN DE LOS MÉTODOS DE DIFUSIÓN EN AGAR Y MICRODILUCIÓN EN EL ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DE CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS A FLUCONAZOL

R.M. Claro, M.C. Serrano, M. Ramírez, M.D. Morilla, O. Montero y E. Martín Mazuelos

Hospital Universitario Valme. Dpto. Microbiología. Sevilla.

Objetivo: Valorar un método de difusión en agar frente al microdilución en caldo (MDM) para el estudio de sensibilidad de *C. neoformans*.

Materiales y método: Se estudiaron 43 cepas de *C. neoformans*, 41 de ellas procedentes de muestras clínicas y 2 cepas de control de calidad (ATCC 90112 y ATCC 90113). El test de difusión en agar se realizó con discos caseros de 25 μg en placas de Mueller-Hinton suplementado con 2% de glucosa y 5 $\mu\text{g/ml}$ de azul de metileno. El MDM se realizó en YNB con 2% de glucosa según las normas del documento M27-A de la NCCLS. La lectura de ambos métodos se llevó a cabo a las 48 y 72 h. Un análisis de regresión definió como resistentes las cepas cuyo halo era $< 18 \text{ mm}$ en el test de difusión en agar. Por otra parte, se consideraron resistentes las cepas con CMI $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ según el trabajo de Aller et al (Antimicrobial Agents Chemotherapy 2000;44:1544-1548).

Resultados: 5 cepas no crecieron en Mueller-Hinton a las 48 h y sólo una más lo hizo a las 72 h.

		Difusión en agar				
		$\geq 18 \text{ mm}$		$\leq 18 \text{ mm}$		
		48 h	72 h	48 h	72 h	
Microdilución en caldo	$< 16 \text{ mg/l}$	48 h	28 (100%)	28 (96,5%)	0 (0%)	1 (5,5%)
		72 h	24 (100%)	23 (92%)	0 (0%)	2 (8%)
	$\geq 16 \text{ mg/l}$	48 h	7 (70%)	5 (50%)	3 (30%)	5 (50%)
		72 h	11 (78,6%)	9 (64,3%)	3 (21,4%)	5 (35,7%)

Conclusiones: 1) La mejor correlación para cepas sensibles es MDM a las 48 o 72 h y difusión en agar a las 48 h (100%). 2) La mejor para las resistentes es MDM a las 48 h y difusión en agar a las 72 h (50%). 3) El método de difusión en agar es útil para la detección de cepas sensibles pero no para la de resistentes.

437

SENSIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS EN ESPECIES DE CRYPTOCOCCUS

J. Ruiz, P. García-Martos, A. Saldarreaga, A. Sepúlveda, A. García-Tapia y J. Mira

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz.

Objetivos: Determinar la sensibilidad *in vitro* a antifúngicos de diversas especies del género *Cryptococcus*, pues aunque las infecciones por especies distintas a *C. neoformans* son raras, se han descrito ocasionalmente en los últimos años.

Material y métodos: Se ensayaron un total de 34 cepas de *Cryptococcus* pertenecientes a 7 especies diferentes: 12 *C. neoformans*, 9 *C. albidus*, 5 *C. uniguttulatus*, 3 *C. humicolus*, 2 *C. laurentii*, 2 *C. luteolus* y 1 *C. infirmo-miniatus*, procedentes de muestras clínicas y ambientales, identificadas por métodos convencionales y el sistema comercial ID 32C (BioMérieux, France). La sensibilidad a 5 antifúngicos (anfotericina B, fluconazol, itraconazol, ketoconazol y 5-fluorocitosina) se determinó mediante el sistema Sensititre YeastOne (AccuMed International, UK) y el método de referencia de microdilución recomendado por el NCCLS (M27-A), utilizando como control las cepas *Candida albicans* ATCC 90028 y *Cryptococcus neoformans* ATCC 2344.

Resultados: Todas las cepas fueron sensibles a anfotericina B. Frente a fluconazol hubo 19 cepas (55,9%) con CMI $\geq 64 \mu\text{g/ml}$ (4 *C. neoformans*, 9 *C. albidus*, 5 *C. uniguttulatus* y 1 *C. infirmo-miniatus*). Frente a itraconazol se detectaron únicamente 9 cepas (26,5%) con CMI $\geq 1 \mu\text{g/ml}$ (5 *C. albidus* y 4 *C. uniguttulatus*). Frente a ketoconazol sólo 6 cepas (17,6%) mostraron CMI $\geq 2 \mu\text{g/ml}$ (5 *C. albidus* y 1 *C. infirmo-miniatus*). Con respecto a 5-fluorocitosina se encontraron 20 (58,8%) cepas con una CMI $\geq 32 \mu\text{g/ml}$ (4 *C. neoformans*, 9 *C. albidus*, 5 *C. uniguttulatus* y 2 *C. luteolus*).

Conclusiones: La resistencia a derivados azólicos es elevada en las diferentes especies del género *Cryptococcus*, especialmente en *C. albidus* y *C. uniguttulatus*. La resistencia a 5-fluorocitosina engloba a un tercio de las cepas de *C. neoformans* y a todas las cepas de *C. albidus*, *C. uniguttulatus* y *C. luteolus* ensayadas en nuestro estudio.

438

CUANTIFICACIÓN DE QUITINA (CQ) PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD *IN VITRO* DE COMBINACIONES DE ANTIFÚNGICOS FRENTE A *A. FUMIGATUS* (AF)

J. Gavaldà, P. López, M.T. Martín, M. Cuenca-Estrella*, X. Gomis, J.L. Ramírez, J.L. Rodríguez-Tudela* y A. Pahissa
*ISCIII, Madrid. Hosp. Vall d'Hebron. Barcelona.

No existe una técnica cuantitativa que evalúe la actividad *in vitro* de combinaciones de antifúngicos frente a AF.

Objetivo: Evaluar la utilidad de la CQ en el estudio de la actividad de antifúngicos en combinación.

Métodos: Se estudiaron las combinaciones de anfotericina B (Ab) y Voriconazol (V) o Terbinafina (T) y de V + T frente a 2 cepas de AF (91 y JJ) mediante checkerboard, según recomendación del NCCLS para estudio de CIM, y CQ. CQ: Se prepararon tubos con 4 mL de YNB tamponado + 2% de glucosa con Ab (0,5-1 mg/L), V (0,125-0,25 mg/L) y T (1-2 mg/L) solos o combinados y se inocularon con 5×10^5 conidias/mL. Tras 24 y 48 h de incubación se procesaron para CQ mediante extracción alcalina y cuantificación fotocolorimétrica. La CQ se expresó como μg de glucosamina (GC). Para las combinaciones se calculó el índice de actividad (IA) como 1-(GC combinación/GC antifúngico más activo). Se consideró sinergia si $\text{IA} > 0,5$ indiferencia entre $-0,5$ y $0,5$ y antagonismo $\leq -0,5$.

Resultados: El checkerboard no evidenció interacción. A 48 h el IA fue $\geq 0,5$ en las combinaciones de V 0,5 y 1 mg/L con T 1 y 2 mg/L para las dos cepas de AF. Para el resto de combinaciones el IA fue $< 0,5$.

Conclusiones: La CQ puede ser una técnica cuantitativa útil y reproducible para evaluar la actividad de las combinaciones de antifúngicos. Nuestros resultados indican un posible antagonismo entre Ab + V o T, y una posible sinergia entre V + T.

439

UTILIDAD DE LA CUANTIFICACIÓN DE QUITINA (CQ) PARA EL ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD *IN VITRO* DE ANFOTERICINA B (Ab) FRENTE A *ASPERGILLUS* SPP. (Asp)

J. Gavaldà*, M.T. Martín*, P. López*, M. Cuenca-Estrella**, X. Gomis*, J.L. Ramírez*, J.L. Rodríguez-Tudela** y A. Pahissa*
*Hospital Vall d'Hebron, Barcelona. **Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

No hay clara correlación entre la CIM de Ab y su actividad *in vivo* frente Asp.

Objetivo: Estudiar la utilidad de la cuantificación del desarrollo de quitina para evaluar la actividad *in vitro* de Ab frente a Asp.

Métodos: Se estudiaron 5 cepas de *A. fumigatus* (AF) y 3 de *A. terreus* (AT). Se determinó la CIM según recomendación del NCCLS (M38-P) modificada, en RPMI + 2% glucosa con un inóculo de $2-5 \times 10^5$ esporas/mL. La CQ se determinó en tubos que contenían Ab en 4 mL de caldo YNB + 2% glucosa (pH 7) e inoculados con 5×10^5 conidias/mL. Tras 24 y 48 h de incubación, la CQ se realizó por extracción alcalina, derivación a glucosamina y cuantificación fotocolorimétrica. Los resultados de CQ se expresaron como la concentración de Ab que produjo el 50 o 90% de inhibición de síntesis de quitina (SQ) respecto al control de crecimiento.

Resultados: La CIM fue = 1 mg/L en 4 de las cepas de AF y de 2 en una cepa, y de 4 mg/L en las 3 cepas de AT. En AF a 24 h se redujo la SQ $> 50\%$ a concentraciones de Ab $\leq 0,25$ mg/L, la reducción del 90% se obtuvo con 0,25 mg/L en las cepas con CIM = 1 mg/L y no se inhibió la SQ al 90% con 2 mg/L en la cepa con CIM = 2 mg/L. A 48 h, en las cepas con CIM = 1 mg/L se redujo al 50% la SQ con 0,125-0,5 mg/L de Ab y al 90% con 0,25-0,5 mg/L. La cepa con CIM = 2 mg/L redujo la SQ al 50% con 0,5 mg/L, sin detectarse reducción del

90% a concentraciones de Ab ≤ 2 mg/L. En AT la reducción del 50% a 24 h se consiguió con 2-4 mg/L de Ab y el 90% solo en una cepa con 8 mg/L. A 48 h concentraciones de Ab ≤ 8 mg/L no inhibieron el 90% de la SQ.

Conclusiones: El % de inhibición de SQ no se correlaciona con la CIM de Ab. En las cepas de AT, se necesitan concentraciones $> 8 \mu\text{g/mL}$ de Ab para conseguir el 90% de inhibición de la SQ. La cuantificación de la biomasa fúngica mediante determinación del % de inhibición de SQ puede ser más discriminativo que la CIM para evaluar la actividad de Ab frente a Asp.

440

UNA MUTACIÓN PUNTUAL DEL GEN *cyp51A* DE LA 14α -DESMETILASA CONTRIBUYE A LA RESISTENCIA AL ITRACONAZOL (ITC) EN *ASPERGILLUS FUMIGATUS*

T.M. Díaz-Guerra, E. Mellado, M. Cuenca-Estrella y J.L. Rodríguez-Tudela

Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

Objetivos: Uno de los mecanismos propuestos para la resistencia de *A. fumigatus* al ITC es la alteración de la enzima diana del ITC y de los demás derivados azólicos, la enzima 14α -desmetilasa. Recientemente, se han descrito los dos genes que codifican esta enzima en *A. fumigatus*, *cyp51A* y *cyp51B*. En este trabajo, se han comparado las secuencias de estos dos genes en cepas con diferente sensibilidad frente al ITC para identificar posibles mutaciones en los genes de cepas resistentes.

Métodos: Se eligieron 6 cepas de *A. fumigatus* con CMI de ITC $> 16 \mu\text{g/ml}$ y dos cepas con CMI $\leq 0,5 \mu\text{g/ml}$. Para confirmar estos valores se realizaron pruebas de sensibilidad *in vitro*, usando medio RPMI suplementado con un 2% de glucosa y un inóculo de $1-5 \times 10^5$ UFC/ml. Se amplificaron por PCR los genes *cyp51A* y *cyp51B* de cada una de las cepas, usando iniciadores específicos y, a continuación, se secuenciaron. Las secuencias *cyp51A* y *cyp51B* de la cepa AF-237, que es la cepa que se utilizó para la descripción de estos dos genes, y que, además, es sensible al ITC, se utilizaron como secuencias de referencia.

Resultados: En tres de las seis cepas resistentes a ITC analizadas, se encontró un cambio de base en el triplete que codifica el aminoácido 54 de la secuencia *Cyp51A*. Este cambio fue distinto en cada una de las tres cepas mutadas: la cepa AF-796 presentó una sustitución de guanina por timina en la posición 161 (G161T); en la cepa AF-72 se encontró la sustitución G161A y en la cepa AF-1237, la mutación detectada fue G160A. El aminoácido sustituido en estas tres cepas es una glicina, y se trata de un residuo altamente conservado en las secuencias *Cyp51* de un amplio rango de organismos. La cepa resistente a ITC, AF-1237, portadora de la mutación G160A es genéticamente indistinguible de otra cepa aislada del mismo paciente, la cepa AF-1119. Esta cepa AF-1119 fue sensible al ITC y no presentó la mutación.

Conclusiones: La mutación detectada en las secuencias *Cyp51A* de 3 cepas resistentes al ITC (sustitución de la glicina 54), parece estar relacionada con la resistencia al ITC.

441

ACTIVIDAD *IN VITRO* DE TERBINAFINA SOLA Y COMBINADA CON OTROS ANTIFÚNGICOS FRENTE A 15 AISLADOS CLÍNICOS DE *ZYMGOMYCOTA*

A. Gómez-López, M. Cuenca-Estrella y J.L. Rodríguez-Tudela
Dpto. Micología. CNM. ISCIII. Majadahonda, Madrid.

La combinación de antifúngicos supone una nueva estrategia de tratamiento para ciertas infecciones fúngicas.

Objetivo: Evaluar la interacción entre TB, ITZ y AMB como posible alternativa de tratamiento.

Método: Se analizó la actividad *in vitro* de los tres antifúngicos empleando una modificación del método M38-P (NCCLS) frente a 15 aislados de la división *Zygomycota*. El efecto sinérgico se valoró mediante el método del tablero de ajedrez, considerando sinérgicas las combinaciones con índice FIC $\leq 0,5$ antagónicas si > 4 e indiferentes cuando varió entre 0,5 y 4.

Resultados: Se reflejan en la tabla adjunta:

	N° aislado	CMI ($\mu\text{g/mL}$)			Σ FIC	
		ANFO	ITZ	TB	TB/ANFO	TB/ITZ
<i>R. microsporus</i>	1	2	> 64	1	0,81	0,05
	2	1	> 64	1	1,185	0,07
	3	2	> 64	2	0,56	0,13
	4	1	> 64	1	0,685	0,11
<i>R. oryzae</i>	1	0,5	> 64	> 16	2	2
	2	0,25	4	> 16	2	0,37
	3	0,5	2	> 16	2	0,16
	4	0,5	> 64	> 16	2	0,14
	5	1	> 64	> 16	2	0,10
<i>A. corymbifera</i>	1	0,25	2	1	-	-
	2	0,25	1	1	-	-
<i>C. bertholletiae</i>	1	2	4	1	0,27	0,21
	2	0,12	1	1	-	-
<i>Mucor</i> spp	1	0,12	1	1	-	-
	2	0,12	1	1	-	-
<i>Mucor circinelloides</i>	1	0,12	> 64	> 16	-	2

Conclusiones: 1) TB y/o ITZ se mostraron inactivos para muchas de las cepas estudiadas (CMI > 16 y > 64 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente), sin embargo la combinación de ambos antifúngicos resultó sinérgica en la mayoría (8/9). 2) AMB tuvo buena actividad *in vitro*, con valores de CMI que variaron entre 0,12 y 2 $\mu\text{g/mL}$. 3) La combinación de AMB/TB no mostró ninguna actividad sinérgica para este grupo de hongos.

442

CONSECUENCIAS DEL TRATAMIENTO CON ANFOTERICINA B EN CONDICIONES DE PRÁCTICA CLÍNICA EN ESPAÑA

M. Sanz Alonso, F.J. López Jiménez, C. Rayón Suarez, V.G. García de Soria, R. Martínez Martínez, L. Vázquez-López, G. Nocea y C. López-Lavid

Merck & Comp. Investigación de Resultados. Whitehouse Station. New Jersey, EE.UU.

Objetivos: Estudiar la frecuencia e impacto de los efectos adversos (EA) de la anfotericina B (AnB) en la práctica clínica habitual en España.

Material y métodos: Se inició un estudio observacional multicéntrico para recoger datos prospectivamente sobre la estancia hospitalaria de adultos tratados con AnB convencional (c-AnB) o AnB lipídica (l-AnB). Los datos se introdujeron en una base de datos relacional a través de internet. El período de seguimiento por paciente comprendió desde el inicio del tratamiento con AnB hasta el alta hospitalaria. Se definió nefrotoxicidad (NT) como un aumento del 50% en creatinina sérica, con un pico de más 2,0 mg/dl sobre el valor basal. Se recogieron todos los demás EA documentados y relacionados a juicio clínico con AnB. Se realizó un análisis multivariante, y se agrupó a los pacientes en función del tipo de anfotericina inicialmente recibida, independientemente de los cambios de tratamiento posteriores.

Resultados: Se analizaron 91 pacientes con datos completos, tratados entre dic/00-sept/01 en las unidades de hematología de 6 hospitales españoles, de 49 años de edad media, siendo un 46% mujeres. Leucemia fue el diagnóstico más frecuente (77%). Un 78% presentó neutropenia (NP) al inicio del tratamiento con AnB. Un 91% recibió la AnB para tratar una infección sospechada o posible. Un 46% del total de pacientes recibió de inicio c-AnB, de los cuales un 55% tuvo que ser sustituida por l-AnB. Un 60% y un 37% de los tratados

de inicio con c-AnB y l-AnB respectivamente padeció algún EA ($p = 0,03$), con un porcentaje similar de NT en ambos grupos (14%). La NT se asoció a una mayor mortalidad hospitalaria (OR = 4,73, $p = 0,02$) tras ajustar por edad, NP y patología de base, y entre aquellos que sobrevivieron, a una mayor estancia hospitalaria (mediana 18 días sin NT vs. 34 con NT, $p = 0,01$).

Conclusión: Los pacientes tratados con c-AnB y l-AnB presentaron con frecuencia EAs, entre ellos NT. La NT puede contribuir a aumentar la mortalidad intrahospitalaria y la estancia media hospitalaria.

443

EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON DOSIS ALTAS INICIALES DE ANFOTERICINA B LIPOSOMAL (Ab-L) EN EL TRATAMIENTO DE LA ASPERGILOSIS PULMONAR EXPERIMENTAL (APE)

J. Gavalda, P. López, M.T. Martín, X. Gomis, J.L. Ramírez, B. Almirante y A. Pahissa

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

La eficacia del tratamiento antifúngico de la aspergilosis pulmonar invasora resulta subóptima. Se ha demostrado que el incremento de las dosis de Ab-L comporta un aumento de anfotericina en tejido pulmonar o renal, pero no hepático, sugiriendo acumulación saturable por el sistema retículoendotelial hepático y probablemente esplénico.

Objetivo: Evaluar la eficacia de Ab-L a una dosis de carga de 10 mg/kg/d seguida por una dosis de 3 mg/kg/d en un modelo experimental de APE.

Métodos: Se trataron ratas Wistar con 3 dosis semanales de 125 mg/kg de acetato de cortisona el tiempo que duró el experimento, al 15º día del inicio de los corticoides se infectaron por vía transtraqueal con 0,3 mL de una suspensión de 1×10^7 conidias/mL de un aislamiento clínico de *Aspergillus fumigatus*. A las 24 h de la infección se inició el tratamiento por un catéter iv. Los grupos de tratamiento fueron: control ($n = 28$); AB 1 mg/kg/d 7 d ($n = 22$); Ab-L 5 mg/kg/d 7 d ($n = 32$) o Ab-L 10 mg/kg durante 2 ($n = 33$), 3 ($n = 34$) o 4 ($n = 21$) d seguida de Ab-L 3 mg/kg/d hasta completar 7 días. Se evaluó la eficacia en ratas tratadas ≥ 5 d mediante cuantificación de quitina como índice de masa fúngica pulmonar; el peso del pulmón y la supervivencia fueron registrados. La quitina se extrajo del tejido por digestión alcalina y analizada como glucosamina por fotolorimetría. Los resultados se expresaron como la media (95% IC) de μg glucosamina/pulmón; análisis de ANOVA; análisis de Kaplan-Meier-Logrank para estudio de supervivencia.

Resultados: El 78,6% de las ratas de control murieron antes del 8º día. Todos los tratamientos aumentaron la supervivencia y disminuyeron el peso de los pulmones significativamente con respecto al grupo control. Sólo Ab-L 10 mg/kg durante 4 d seguida por 3 mg/kg prolongó significativamente la supervivencia (76,2 vs 45,4%) y redujo el contenido de quitina en pulmón en comparación con AB ($P < 0,05$).

Conclusiones: Dosis altas de carga de Ab-L superiores a 5 mg/kg mejoran la eficacia del tratamiento de la APE.

444

EFICACIA COMPARATIVA DE FORMULACIONES LIPÍDICAS DE ANFOTERICINA B EN ASPERGILOSIS PULMONAR EXPERIMENTAL

J. Gavalda, M.T. Martín, P. López, X. Gomis, J.L. Ramírez, M. Rosal, B. Almirante, C. Pigrau y A. Pahissa

Hospital Vall d'Hebron. Barcelona.

Las diferencias en eficacia de formulaciones lipídicas de anfotericina B entre sí y la de anfotericina B desoxicolato (Ab) en el tratamiento de la aspergilosis invasora no están resueltas.

Métodos: Ratas Wistar se trataron con 125 mg/kg acetato de cortisona tres veces a la semana durante el experimento. Al 15 día del inicio de los corticoides se infectaron por vía transtraqueal con 0,3 mL de una suspensión de 1×10^7 conidias/mL de un aislamiento clínico de *Aspergillus fumigatus*. A las 24 h de la infección se inició el tratamiento por un catéter iv con Ab 0,9 mg/kg; complejo lipídico de anfotericina B (ABC) 1, 3 o 5 mg/kg; o anfotericina B liposomal (AmB) 1, 3, 5 o 10 mg/kg durante 10 d. La eficacia se evaluó en ratas tratadas 5 d como mínimo mediante cuantificación de quitina, como índice del total de micelio en pulmones y peso de los pulmones. La quitina se extrajo por digestión alcalina del pulmón y analizada como glucosamina (GC) por colorimetría. Los resultados se expresaron como la media (95%IC) ϕ GC/pulmones y se analizaron por la prueba de Mann-Whitney U Wilcoxon. Se registró la supervivencia, pero no se consideró debido a detección de mortalidad relacionada con el tratamiento en ratas inmunosuprimidas pero no infectadas.

Resultados: El peso de los pulmones de las ratas tratadas con Ab, ABC5, AmB5 y AmB10 fue significativamente menor que el obtenido en los controles ($P < ,05$). El peso de los pulmones de las ratas tratadas con AmB5 fue significativamente menor al obtenido en el resto de grupos, excepto Ab y AmB10 ($P < ,05$). AmB10 resultó en una disminución del peso comparada con todos los grupos de tratamiento, excepto AmB 5. AmB 5 y 10 redujeron significativamente la GC con respecto al control ($P < ,05$). AmB10 redujo la GC comparada con todos los grupos excepto AmB 5 ($P < ,05$).

Conclusión: AmB 10 mg/kg fue más efectiva que Ab y ABC a diferentes dosis. AmB 5 mostró tendencia hacia una mejor eficacia con respecto a cualquier concentración de ABC y 1 mg/kg/d de Ab.

445

INTERACCIÓN ITRACONAZOL-TACROLIMUS EN PACIENTES CON TRANSPLANTE PULMONAR O HEPÁTICO

B. Sánchez-Santiago, M.A. de Cos, E. Fabrega, F. Casafont, F. Zurbarán, J.M. Cifrián, A.B. González, C. Moro y G. Peralta
H. Universitario Marqués de Valdecilla. H. Sierrallana. Cantabria.

Objetivos: Debido al derrumbamiento parcial de nuestro hospital se ha incrementado el uso de itraconazol (ITRA) en pacientes trasplantados. Analizamos el efecto que supuso la suspensión del tratamiento con ITRA en los niveles plasmáticos y dosificación de tacrolimus en pacientes con trasplante hepático (TH) o de pulmón (TP).

Métodos: Se revisaron retrospectivamente todos los pacientes con TP o TH en nuestro hospital en tratamiento con tacrolimus, seleccionando aquellos tratados con ITRA. Los niveles de tacrolimus se determinaron de manera rutinaria, a criterio, mediante inmunoensayo en un analizador IMx (Abbott). Se definió índice nivel-dosis como concentración plasmática/dosis diaria. Para la comparación de las medias se utilizó el test de Wilcoxon.

Resultados: Analizamos 8 pacientes con TH y 5 con TP en tratamiento con tacrolimus a los que se les retiró ITRA. La suspensión tuvo lugar de octubre de 1998 a junio del 2001. En todos los pacientes se detectó un descenso de la concentración de tacrolimus al retirar el ITRA (caída media de 7,8 ng/ml, es decir de un 51% -rango 17-83%- del nivel prerretirada, $p = 0,001$) y un descenso del índice nivel-dosis (caída media del 70% -rango 46-86%- del índice nivel-dosis, $p = 0,001$). El descenso de la concentración plasmática de tacrolimus obligó en todos los casos, salvo en uno, a un incremento de su dosis diaria (incremento medio 2,6 mg/día, es decir del 98% de la dosis inicial, rango 0-250%, $p = 0,002$). El descenso del índice nivel-dosis se detectó ya en la 1ª semana tras retirar el ITRA, aunque se hizo máximo tras 4 semanas. No hubo diferencias en el descenso del índice nivel-dosis según el tipo de trasplante.

Conclusiones: la retirada del tratamiento con ITRA en pacientes en tratamiento con tacrolimus ocasiona un descenso en los niveles plasmáticos de éste último que obliga a incremento significativo de su dosis diaria.

446

EXPERIENCIA CLÍNICA CON VORICONAZOL (VCZ) EN MICOSIS INVASIVAS POR HONGOS FILAMENTOSOS (HF)

J. Fortún, P. Martín-Dávila, M.A. Sánchez, V. Pintado, M.E. Álvarez, D. Hernández, A. Sánchez-Sousa y S. Moreno
Servicio de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: La mortalidad asociada a infecciones invasivas por HF en pacientes inmunodeprimidos es muy alta, a pesar de tratamiento con anfotericina B, incluidas las formas lipídicas. La experiencia clínica con VCZ es reducida pero los datos preliminares son prometedores.

Métodos: Presentamos la experiencia con VCZ, administrado de forma compasiva, en el tratamiento de micosis invasivas por HF en 4 pacientes con trasplante de órgano sólido y 1 paciente con tratamiento inmunosupresor por anemia autoinmune. Se siguieron los criterios de la EORT para micosis invasivas por HF. Las pruebas de sensibilidad se realizaron mediante microdilución (M38-P), siguiendo las recomendaciones de la NCCLS. Para cada aislado se probaron 3 antifúngicos: voriconazol (VCZ), itraconazol (ITZ) y anfotericina B (AnB).

Resultado: Cuatro pacientes presentaron infección por *Aspergillus* spp (3 pulmonar, 1 abdominal) y 1 paciente por *Scedosporium* spp (ocular). Todos los aislados presentaron CMI a VCZ < 1 ug/ml. Todos los pacientes habían presentado cultivos positivos a pesar de recibir de 1 a 5 g de anfotericina lipídica, excepto el paciente con scedosporiasis, en que VCZ fue el tratamiento de inicio. VCZ se mantuvo entre 60 y 90 días (por vía intravenosa durante 0-30 días). En ningún paciente se observó toxicidad visual y en 1/5 se observó una elevación moderada ($\times 3$) de transaminasas. Por el contrario, en los 5 pacientes se confirmaron elevación de niveles séricos de tacrolimus o ciclosporina, provocando en 1 caso insuficiencia renal aguda grave. En todos los pacientes se confirmó mejoría total o parcial de los signos clínicos y en 4/5 se constató curación microbiológica.

Conclusión: VCZ es un tratamiento eficaz y seguro en el manejo de micosis invasivas por HF en pacientes inmunodeprimidos. Para evitar nefrotoxicidad es preciso reducir las dosis de tacrolimus o ciclosporina. Al menos en esta serie, se observa una buena correlación entre las pruebas de sensibilidad y la respuesta clínica.

Sesión 21 Métodos diagnósticos (II)

447

SHELL-VIAL CON CÉLULAS DE RABDOMIOSARCOMA PARA DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE MENINGITIS POR ENTEROVIRUS

E. Palacios, J. Rodríguez, E. Manrique, A. Guzmán, M. Serrano y J.M. Navarro
Servicio Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.

Objetivo: Evaluar la técnica de shell-vial (SV) con lectura a las 48 h utilizando un cultivo de células de rhabdomiosarcoma (RD), frente al cultivo tradicional y SV con MRC-5, para el diagnóstico de enterovirus a partir de muestras clínicas.

Métodos: Se han estudiado 45 muestras (10 LCR, 15 heces y 20 faríngeos) de 20 enfermos con meningitis linfocitaria aguda.

Cultivo tradicional: De cada muestra se inocularon 0,2 ml en células Vero, RD, MRC-5 y Hep-2; los enterovirus se identificaron por IFI con monoclonales específicos de género (clon 5-D8/1 de DAKO) tras detección de efecto citopático en alguna de las líneas celulares. Posteriormente se tiparon por IFI (Echovirus antibody set y Coxsackie antibody set de Chemicon).

Técnica de SV: Se inocularon 0,2 ml de muestra por centrifugación en 2 tubos de fondo plano con cultivos RD y 2 tubos con MRC-5, realizándose IFI a las 48 h para detectar enterovirus.

Resultados: Por *cultivo tradicional* se aisló enterovirus en 33 muestras (73,3%) (7 LCR, 15 faríngeos y 11 heces) de 15 enfermos (en 5 enfermos se aisló ECHO 30, en 2 ECHO 6, en 2 Coxsackie B5, en 1 Coxsackie A9 y en 5 no se pudo tipar el virus); 28 crecieron en RD y MRC-5, 3 sólo en RD. Ninguna muestra fue positiva por SV y negativa en cultivo tradicional. Por la técnica de SV con MRC-5 fueron positivas 15 muestras (45% del total de positivos) y por SV con RD 31 (94%); no hubo positivas en SV con MRC-5 y negativas con RD. En las muestras detectadas por ambos sistemas la media de focos fluorescentes fue siempre superior con RD (5 a 20 veces más focos por campo de 40).

Conclusiones: La técnica de shell-vial usando cultivo de RD permite el diagnóstico rápido de las meningitis por enterovirus. La línea celular MRC-5 puede ser útil para el cultivo tradicional, pero es poco sensible para efectuar un diagnóstico mediante shell-vial.

448

RENDIMIENTO DEL CULTIVO CELULAR EN EL AISLAMIENTO DE ENTEROVIRUS

I. de Benito, M.E. Cano y M.V. Sanjuan

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander.

El cultivo celular es el método de referencia para el diagnóstico en el laboratorio de enterovirus, existiendo varias líneas celulares para su aislamiento con diferente sensibilidad según el subgrupo de enterovirus.

Objetivo: Evaluar la eficacia de distintas líneas celulares en el aislamiento de enterovirus y comparar el método de shell-vial frente al cultivo convencional.

Material y métodos: Estudiamos retrospectivamente 81 muestras con resultado positivo para enterovirus (tipadas como echovirus), 47 de LCR y 34 de tracto respiratorio superior (TRS). Las muestras fueron inoculadas en células MRC5 por el método de cultivo convencional y en MRC5, Hep-2, RD, y BGM por el método de shell-vial.

Resultados: De las líneas utilizadas para el método de shell-vial: 43 muestras de 81 (53%) fueron positivas para MRC5, 36 (44,4%) en RD, 29 (35,8%) en Hep-2 y 15 (18,5%) en BGM. Los resultados obtenidos por cultivo convencional en MRC5 fueron de 75 (92,5%) muestras positivas. Del total de las 81 muestras positivas, 77 (95%) se diagnosticaron sólo con la línea celular MRC5, empleando conjuntamente los dos métodos de cultivo.

Conclusiones: 1) En el caso de los echovirus aislados por el método de shell-vial, observamos un mayor porcentaje de aislamientos en MRC5 frente al resto de líneas celulares, pero esta diferencia no justifica prescindir de los otros tipos de células para el diagnóstico de enterovirus por este método. 2) Comparando los resultados obtenidos por el método de cultivo convencional frente al shell-vial, en células MRC5, se deduce claramente la buena rentabilidad del cultivo convencional. 3) La alta proporción de enterovirus aislados únicamente con MRC5 indica que esta línea celular puede ser de gran utilidad en laboratorios que solo puedan disponer de una clase de células.

449

EXPERIENCIA CON LA LÍNEA CELULAR A-549 PARA EL AISLAMIENTO PRIMARIO DE VIRUS COXSACKIE B

I. Martínez, C. Prieto, S. Maldonado, M.J. Babiano, G. Trallero, D. Folgueira y J.R. Otero

Servicio de Microbiología. Hospital 12 de Octubre y CNM, Majadahonda. Madrid.

Objetivos: Evaluar la experiencia adquirida con el uso de la línea celular continua A-549 (derivada de adenocarcinoma humano de pulmón) para el aislamiento primario de virus Coxsackie B, comparándola prospectivamente con la línea BGM (derivada de células de riñón de mono verde).

Métodos: Entre abril de 1998 y junio de 1999, las torundas faríngeas enviadas al laboratorio de Virología fueron inoculadas en las líneas celulares MRC-5 (Laboratorios Vircell. Granada, España) y A-549 (American Type Culture Collection ATCC-CCL 185) en tubos. Los aislamientos de Enterovirus (EV) obtenidos fueron tipados por seroneutralización convencional. Durante una fase del estudio, se añadió un tercer tubo con células BGM (Centro Nacional de Microbiología. Majadahonda, Madrid).

Resultados: En el período de estudio se recuperaron 171 aislamientos de EV. De ellos, 56 (32,7%) mostraron efecto citopático (ECP) sólo en A-549 (Grupo I); 48 (28%) sólo en MRC-5 (Grupo II); y 67 (39%) en ambas líneas celulares. Dentro del grupo I, la mayoría de los aislamientos (48 de 56, 85,7%) fueron Virus Coxsackie B pertenecientes a cuatro serotipos, B1, B2, B4 y B6. Durante el período en que A-549 y BGM fueron comparadas prospectivamente, se obtuvieron 90 aislamientos de EV de 746 muestras procesadas (12%). Todos los EV que crecieron en A-549 pero no en MRC5 (n = 20, 22%) también mostraron ECP en células BGM, siendo todos identificados como virus Coxsackie B. El ECP fue detectado aproximadamente el mismo día en ambas líneas.

Conclusiones: En este estudio, la línea celular A-549 se ha mostrado útil para el aislamiento primario de virus Coxsackie B, con resultados comparables a los obtenidos con BGM. La detección de EV en A-549 pero no en MRC-5 identificó virus Coxsackie B en la mayoría de casos. Por otra parte, A-549 puede proporcionar una mayor utilidad en el laboratorio para aislamiento de otros virus de importancia clínica.

450

DETECCIÓN DEL VIRUS INFLUENZA MEDIANTE CULTIVO EN SHELL-VIAL Y RT-PCR EN GIPUZKOA

M. Montes, D. Vicente, G. Cilla, A. González y L. Piñeiro

Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián.

Introducción: El cultivo celular es la técnica de referencia para la identificación del virus *Influenza* (VI). El objetivo de este trabajo es comparar los resultados del cultivo del virus *Influenza* en shell-vial con los de una nested PCR múltiple en un laboratorio perteneciente a la red nacional de vigilancia de la gripe.

Métodos: Durante las dos últimas temporadas invernales investigamos la presencia del VI en 391 frotis faríngeos (248 adultos y 143 pediátricos) enviados por médicos de la red centinela. Para el cultivo en shell-vial se sembraron 2 viales con células MDCK y 2 con A-549. Se realizó una RT-PCR múltiple con RNA extraído con Trizol-cloroformo. Se utilizaron los iniciadores descritos por Stockton et al (J Clin Microbiol 1998;36:2990-5) para detección de *Influenza* AH1, AH3, *Influenza* B, VRS tipo A y VRS tipo B.

Resultados: Se detectó VI en 124/391 (31,7%) de las muestras, siendo 115 tipo A (52 H1 y 59 H3) y 9 tipo B. La PCR detectó 120/124 (96,8%), mientras que el cultivo detectó 94/124 (75,8%).

Conclusiones: La PCR fue más sensible que el cultivo, además permitió conocer el subtipo circulante.

451

EVALUACIÓN DE UN MÉTODO ELISA DOT-BLOT PARA LA DETECCIÓN SIMULTÁNEA Y DIFERENCIAL DE LOS VIRUS INFLUENZA A Y B

J. Reina, E. Padilla, F. Alonso, E. Ruiz de Gopegui, A. Galmes y F. Ferres

Unidad de Virología. Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca.

Se presenta un estudio prospectivo para evaluar la eficacia de un sistema de enzimoimmunoensayo (ELISA) tipo dot-blot (Directigen FluA+B, Becton & Dickinson) en la detección antigénica simultánea y diferencial de los virus Influenza A (IA) y B (IB) en dos grupos diferentes: pacientes de la red centinela (adultos) y pacientes atendidos en urgencias de pediatría. A cada muestra (frotis faríngeo/red centinela y aspirado nasofaríngeo/niños) se les realizó, además de la detección antigénica, el cultivo en la línea celular MDCK, que se incubó 72 h a 36 °C y fue revelado con anticuerpos monoclonales específicos para estos virus (Monofluorkit IA+IB, Pasteur). En este estudio se han analizado 160 muestras correspondientes a 93 (58,1%) pacientes pediátricos procedentes de urgencias y 67 (41,9%) de la red centinela. De estas muestras 74 (46,2%) fueron consideradas como positivas por aislamiento viral. De las muestras positivas 46 (62,2%) pertenecían al grupo pediátrico y 28 (37,8%) a la red centinela; representando una positividad global del 49,4% en pediatría y 41,7% en la red centinela. Las 74 (100%) muestras positivas fueron aisladas en el cultivo celular frente al 68,9% que fueron detectadas como positivas por el método ELISA ($p < 0,05$). No se ha detectado ninguna reacción falsa positiva con el método antigénico, lo cual determina que la especificidad y valor predictivo negativo del mismo sea del 100%. El virus IA fue aislado en 41 muestras (25,6%) y el virus IB en 33 (20,6%). De las 41 muestras positivas frente al virus IA el método ELISA detectó 34 (82,9%) y de las 33 positivas frente al virus IB lo hizo en 17 (51,5%) ($p < 0,05$). Los datos globales obtenidos han sido sensibilidad: IA (82,9%), IB (51,5%) ($p < 0,05$) y valor predictivo positivo: IA (92,4%) e IB (84,3%). Se han observado diferencias significativas en la detección de los virus IA y IB entre las muestras de la red centinela y las de origen pediátrico. El método de detección antigénica evaluado presenta resultados aceptables para el virus Influenza A y algo peores para el virus Influenza B, variando en función de la muestra y el tipo de paciente.

452

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE LIBERACIÓN GENÓMICA PARA DETECTAR HSV TIPOS 1 Y 2, Y VZV MEDIANTE PCR MÚLTIPLE

S. Melón, J.A. Boga, J.A. Fernández, A. Palacio, A. Rodríguez y M. de Oña

Sección de Virología (Microbiología I). H. Central de Asturias.

Objetivo: Comparar la sensibilidad de la PCR múltiple para Herpes Simplex virus tipos 1, 2 y Varicela-Zoster a partir de muestras con y sin digestión previa con proteinasa K.

Material y métodos: Entre enero y octubre de 2001 se estudiaron en paralelo 112 muestras (37 vesículas, 23 exudados endocervicales, 22 biopsias, 19 muestras respiratorias, 7 exudados conjuntivales y 4 leucocitos de sangre periférica) para detectar HSV1, HSV2 y VZV, mediante una técnica de PCR-nested múltiple en tubo simple, sin manipular y liberando el ADN con proteinasa K según los protocolos del laboratorio (45 min a 56 °C y 10 min a 95 °C). Antes de empezar los ciclos de la PCR, la muestra con la mezcla de reacción se incubó durante 10 min a 95 °C. Además, todas las muestras fueron inoculadas en células MRC5 según protocolos establecidos.

Resultados: De las 112 muestras estudiadas, 65 (58,03%) fueron positivas: 40 (61,5%) HSV1, 16 (24,6%) VZV y 9

(13,8%) HSV2. De las 65 muestras positivas, 63 (97%) lo fueron por PCR previo tratamiento enzimático, 42 (64,6%) por PCR sin tratamiento previo y 29 (44%) por cultivo ($p < 0,01$). El HSV1 se detectó más frecuentemente en las muestras digeridas con proteinasa K que en las muestras sin tratar (97,5% vs 62,5%, $p < 0,001$). En cuanto al tipo de muestra, aunque la PCR fue más sensible en las muestras tratadas con el enzima, las diferencias fueron más acusadas en las que tenían muchas células como las biopsias (45,4% vs 22%) o en las que tenían pocas células como los exudados conjuntivales (57% vs 14%).

Conclusiones: La sensibilidad de la PCR es menor cuando se utiliza la muestra directa, donde se añade un paso pre-PCR de 10 minutos a 95 °C, que con el tratamiento clásico con proteinasa K. A pesar de ello, el alto porcentaje de detección permite utilizar esta estrategia en situaciones de urgencia.

453

PCR-ANIDADA MÚLTIPLE (PCR-A-M) EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES NEUROLÓGICAS POR VIRUS GRUPO HERPES (VGH)

F.I. Hidalgo, S. Melón, S. Pérez, L. Barreiro, B. Iglesias, A. Palacios y M. de Oña

Hospital Central Asturias-Servicio Microbiología I. Sección Virología. Oviedo.

Objetivo: Diagnosticar infecciones neurológicas por VGH mediante PCR-a-m.

Pacientes y muestras: Se estudiaron 131 LCR de 108 pacientes con meningoencefalitis vírica (MEV) (Grupo A) y 40 LCR de 36 pacientes con otras patologías neurológicas (Grupo B).

Método: Se realizó PCR-a-m y PCR-a individual (PCR-a-i), con 1 par de cebadores externos y 1 par de internos de cada virus, conjuntamente en PCR-a-m y por separado en PCR-a-i. Diez microlitros de LCR se añadieron a la mezcla reactiva, que contenía todos los componentes excepto cebadores internos y Taq polimerasa de la segunda amplificación. La 1ª amplificación constó de 20 ciclos (desnaturalización [D] 95 °C, 30"; anillamiento [A] 51 °C, 30"; polimerización [P] 72 °C, 1"; P en ciclo 20, 72 °C, 10"). La segunda amplificación constó de 35 ciclos, se realizó en el mismo tubo, añadiendo Taq polimerasa y cebadores internos (D 95 °C, 30"; A 54 °C, 30"; P 72 °C, 1"; P en ciclo 35, 72 °C, 10"). La mezcla reactiva se preparó y congeló a -20 °C, máximo 90 días. Los LCR se ensayaron en paralelo mediante PCR-a-m y PCR-a-i, con la mezcla reactiva congelada y otra idéntica preparada en el momento de uso.

Resultados: *Pacientes.* - Grupo A: Se detectó infección en 35 (32,40%) pacientes; 22 VHS-1, 6 VHS-2, 4 VVZ, 3 CMV. *Grupo B:* Se detectó infección en 8 (22,22%) pacientes; 7 VHS-1, 1 VEB. *PCR-a-i vs. PCR-a-m.* - Se obtuvieron idénticos resultados. *Mezcla reactiva.* - Se obtuvieron idénticos resultados con mezcla fresca y congelada.

Conclusiones: 1) PCR-a-m es útil en diagnóstico de patología neurológica. 2) PCR-a-m permite detectar los mismos agentes etiológicos que PCR-a-i, conservando sensibilidad y especificidad. 3) Mezcla reactiva congelada facilita la utilización de PCR-a-m. 4) Los VGH están implicados en procesos neurológicos diferentes de las MEV hasta en un 22% de casos.

454

PCR NESTED CON LIGHTCYCLER EN CAPILAR ÚNICO CERRADO PARA LA DETECCIÓN DEL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (VPH)J.A. García, L. Galipienso, A. Pérez-Vallés y M. Martortell
Hospital General Universitario de Valencia. Valencia.

Objetivo: Desarrollo de un método de detección sensible, rápido y económico de VPH basado en la técnica PCR empleando tecnología LightCycler (LC), a partir de biopsias (fijadas con formol e incluidas en parafina) con diagnóstico de sospecha de infección por el virus.

Material y métodos: La tecnología LC se basa en el uso de capilares que permiten disminuir el tiempo de la PCR en aproximadamente cinco veces. En una de sus aplicaciones, los productos de amplificación (ADN de doble cadena) de la reacción de PCR se detectan mediante unión de éstos a una molécula fluorescente (SYBR Green I). Los resultados pueden analizarse en tiempo real durante la PCR, o al final de ésta cuando se generan las curvas de fusión para discriminar los productos específicos. Se usaron un total de 65 biopsias de cérvix con diagnóstico previo de Lesión Escamosa Intraepitelial de distinto grado. La extracción del ADN de las muestras se realizó mediante el método fenol-cloroformo. La amplificación del ADN del VPH se llevó a cabo en dos rondas de PCR en un solo capilar: la mezcla de reacción de la 1ª ronda (cebadores universales MY11/MY09) queda separada de la mezcla de reacción de la 2ª ronda (cebadores universales GP5/GP6) por una interfase de aceite mineral, y tras la primera PCR se mezclan ambas reacciones mediante pulso de centrifuga (2000xg). Se utilizó el gen de la β -globina para evaluar la calidad de la extracción, y muestras de sangre periférica como controles negativos.

Resultados: El ADN del VPH fue detectado en 54 muestras (83%). La amplificación del gen de la β -globina fue positiva en el 100% de los casos. En ningún control negativo se amplificó el ADN del VPH.

Conclusiones: La técnica ensayada se ha mostrado eficaz y rápida en la detección de VPH. El ADN obtenido tras la PCR-nested permite el posterior genotipado del virus mediante secuenciación directa.

455

PCR EN TIEMPO REAL PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DEL HERPES GENITAL

C. Aldea, C.P. Álvarez, L. Folgueira, R. Delgado y J.R. Otero
Servicio de Microbiología, Hospital 12 de Octubre, Madrid.

Objetivo: Realizar un diagnóstico rápido del herpes genital utilizando técnicas de amplificación en tiempo real.

Métodos: Se estudiaron 118 muestras recogidas de úlceras genitales, que fueron procesadas por cultivo celular convencional. Los aislamientos de virus *Herpes simplex* (VHS) fueron tipados con reactivos monoclonales por fluorescencia sobre cultivo celular. Paralelamente, se realizó la extracción del ADN de VHS eventualmente presente y se amplificó con una PCR en tiempo real, basada en la tecnología LightCycler (LC) (Roche). Se eligieron 2 sets de iniciadores, correspondientes a las regiones Timidin-Kinasa (TK) y DNA Polimerasa (Pol), que fueron utilizados en capilares separados que contenían la molécula fluorescente SBYR Green I como detector de la señal de amplificación. Además de dicha molécula, se completó el análisis midiendo la temperatura de desnaturalización de los productos amplificados.

Resultados: De 118 muestras, se aisló VHS en 28 casos (24%), siendo identificados 10 (36%) como VHS-1 y 18 (64%) como VHS-2. Todas las muestras positivas por cultivo lo fueron también por PCR con los dos juegos de iniciadores. La técnica LC permitió cuantificar el número de copias de ADN de la muestra amplificada, obteniéndose una media de 71.879 copias para los iniciadores TK y 38.795 copias para los Pol. Además, 6 muestras con cultivo negativo fueron positivas por PCR con ambos iniciadores. Considerando el cultivo convencional como técnica de referencia, la sensibilidad de la PCR fue del 100%, la especificidad del 93%, el valor predictivo positivo del 82,2% y el valor predictivo negativo del 100%. Sin embargo, teniendo en cuenta que las seis muestras positivas por PCR fueron confirmadas por electroforesis en gel, creemos que pueden ser falsos negativos del cultivo convencional más que falsos positivos de la PCR.

Conclusión: La PCR en tiempo real, utilizando el instrumento LC, es una técnica simple, muy rápida (aproximadamente 3 horas) y muy sensible para la detección de VHS de muestras genitales.

456

TEST DE CUARTA GENERACIÓN Y TEST RÁPIDO BASADO EN LA INMUNOCROMATOGRAFÍA CAPILAR PARA DIAGNÓSTICO DE VIH

C. Avellaneda, M. Mantecón, R. Ortiz de Lejarazu, L. Ruiz, J.M. Eiros, B. Hernández, M. Ortega y A. Rodríguez-Torres
H.C.U. Valladolid. Microbiología.

Objetivo: El diagnóstico de la infección VIH experimenta constantes cambios. Las principales novedades diagnósticas en VIH han sido los EIAs de cuarta generación que detectan simultáneamente antígeno p24 y anticuerpos de VIH y los tests rápidos de inmunocromatografía capilar (ICC). Estudio ciego, prospectivo, sobre la demanda total de VIH hospitalaria de una prueba rápida inmunocromatográfica y un test de 4ª generación para el diagnóstico VIH.

Material y métodos: Se estudiaron prospectivamente 1019 muestras séricas recibidas para diagnóstico de infección VIH. En todas se realizó un test rápido de ICC (Determine, Abbott) y un ELFA de 4ª generación para ac y ag p24 (Vidas Biomerieux). A los sueros positivos por ELFA se les realizó Western blot (WB) como prueba de confirmación utilizando los criterios de positividad de la OMS, y cuando fue indeterminado o negativo se determinó la carga viral por un método cuantitativo (Cobas Amplicor, Roche) y Ag p24 por neutralización.

Resultados: De los 1.019 sueros, 409 procedían de varones y 610 de mujeres. De éstas, 201 eran gestantes (32,95%). La prevalencia de infectados fue del 3,1%. De ellos 19 (4,3%) eran varones y 17 (4,64%) mujeres. La prueba rápida para el diagnóstico de VIH presentó en nuestro estudio una sensibilidad (S) del 97,2% (IC 95% 82,8-99,6), una especificidad (E) del 99,59% (98,88-99,86) con un VPP del 89,74% (74,84-96,6) y un VPN del 99,89% (99,3-99,9), se detectaron dos seroconversiones a VIH con el test de 4ª generación (ac VIH *negativos*, ag p24 + y carga viral > 10⁵/ml).

Conclusiones: El test ICC ensayado es una prueba rápida y fiable para el diagnóstico de la infección por VIH en situaciones de urgencia debido a su excelente VPN. En laboratorios con baja prevalencia de diagnósticos VIH, su VPP disminuye a pesar de su alta especificidad. En combinación con test de 4ª generación permite identificar mejor las seroconversiones VIH.

457

VALORACIÓN DE UNA TÉCNICA DE ELISA VIRONOSTIKA PARA DETECCIÓN CONJUNTA DE ANTÍGENO HIV Y ANTICUERPOS HIV 1-2

C. Aldea, J. Gómez, I. García-Bermejo y J.R. Domínguez
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Getafe, Madrid.

Objetivo: Evaluar la utilización de una técnica de detección conjunta de Ag-HIV y Ac HIV1-2 para el diagnóstico serológico de la infección por VIH.

Métodos: Se seleccionaron 117 sueros remitidos para estudio de infección por VIH, elegidos según los resultados obtenidos en la prueba de cribado de Ac-VIH 1-2 realizada por EIA (ACCES HIV 1-2 BIO-RAD) con los siguientes resultados: 62 reactivos, 30 débilmente reactivos y 25 no reactivos. Los sueros con algún tipo de reacción se confirmaron con WB (New Lav Blot I BIO-RAD), efectuándose paralelamente la detección de Ag-VIH (Elavia Ag I BIO-RAD). Asimismo, los 117 sueros se ensayaron con la técnica Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ac (bioMérieux).

Resultados: 46 sueros (74,19%), pertenecientes al grupo de Ac-VIH 1-2 reactivos, fueron, asimismo, reactivos por Vironostika y confirmados con WB. De ellos, 11 (23,9%) tenían conjuntamente Ag-HIV positivo. Los 16 sueros restantes (25,8%) presentaron WB indeterminado y Ag-VIH negativo. En el grupo de 30 sueros débilmente reactivos, sólo 3 (10%) fueron reactivos por Vironostika, siendo todos WB negativo y

Ag-VIH negativo. De los 26 sueros Ac-VIH 1-2 no reactivos, 25 (96,1%) fueron, asimismo, no reactivos por Vironostika, encontrándose 1 suero reactivo por dicha técnica. En éste suero no se detectaron anticuerpos específicos, pero fue positivo el Ag-HIV, comprobándose un mes más tarde la seroconversión. La Sensibilidad y Especificidad de Vironostika fue de 100% y 98% respectivamente, siendo el VPP 97,9% y el VPN de 100%. **Conclusión:** Vironostika es una técnica con alta sensibilidad y especificidad para realizar el diagnóstico serológico de la infección por VIH, permitiendo detectar la infección durante el período ventana. La detección conjunta de Ag-VIH y Ac VIH 1-2 reduce la carga de trabajo en el laboratorio y disminuye el tiempo de respuesta al clínico.

458

COBAS CORE HIV COMBI EIA: VALORACIÓN DE UNA TÉCNICA DE EIA PARA DETECCIÓN CONJUNTA DE AG P24 HIV-1 Y AC HIV 1-2

J. Gómez, I. García-Bermejo, C. Aldea, C. García, C. Martín y J.R. Domínguez

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Getafe, Madrid.

Objetivo: Evaluar la utilización de una técnica de detección conjunta de Ag p24 y Ac HIV 1-2 para el diagnóstico serológico de la infección por VIH.

Métodos: Se estudiaron 268 sueros: 42 muestras de seroteca elegidas por su reactividad en la prueba de cribado de Ac-VIH 1-2 realizada por EIA ACCES HIV 1-2 (BIO-RAD) y/o en el Ag p24 Elavia Ag I (BIO-RAD) y 226 sueros no seleccionados remitidos para estudio de anti HIV con COBAS CORE II anti HIV 1+2+0 (Roche)(CC). Los sueros reactivos por alguna de las tres técnicas utilizadas, se confirmaron con WB New Lav Blot I (BIO-RAD) o con un Inmunoblot (INNOLIA HIV Innogenetics), efectuándose paralelamente la detección de Ag p24 y confirmación por neutralización.

Resultados: 25 de los 42 sueros de seroteca, fueron reactivos por CCcombi, de ellos 24 eran anti VIH reactivos confirmados con WB y 12 presentaban simultáneamente Ag p24 positivo, es de destacar que 1 suero carecía de anticuerpos específicos pero era Ag p24 positivo, demostrándose un mes más tarde la seroconversión. Los 17 sueros restantes pertenecientes a gestantes y pacientes en hemodiálisis o con algún tipo de enfermedad autoinmune fueron anti HIV y Ag p24 negativos, siendo asimismo WB negativos. De los 226 sueros no seleccionados, 28 fueron reactivos por CCcombi, 22 de ellos fueron anti HIV reactivos, confirmado por LIA, encontrándose en 1 caso Ag p24 conjuntamente. Los 6 sueros restantes se correspondieron con reactividades inespecíficas siendo negativos en la prueba LIA como en la detección de Ag p24 de VIH. La S y VPP encontrados en nuestro estudio para CC combi fue 100% y 87,7% respectivamente siendo la E de 97% y el VPN de 100%.

Conclusiones: La utilización de CCcombi disminuye el tiempo necesario para realizar el diagnóstico serológico tradicional de la infección por VIH. Su aplicación como método de cribado puede ser especialmente útil en personas de riesgo conocido y en recién nacidos de madres infectadas por VIH.

459

EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE ENZIMOINMUNOANÁLISIS (EIA) PARA LA DETECCIÓN CONJUNTA DE AG Y AC DE VIH

F. García Lázaro, R. Marín Jiménez, S. Muñoz Criado, V. Picot y J.L. Muñoz Bellido

Departamento de Microbiología. Hospital Universitario, Salamanca.

Objetivos: Comparar la sensibilidad y especificidad de dos técnicas de EIA para la detección conjunta de Ag y Ac frente al virus de la inmunodeficiencia humana.

Métodos: Se ha utilizado un test de *screening* para detección conjunta de Ag-Ac de VIH por técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) automatizado mediante el sistema VIDAS HIV DUO (HIV4), bio Merieux S.A. France, y otro EIA para detección conjunta de Ag-Ac de VIH en microplaca (GENSCREEN PLUS HIV Ag-Ab), BIO-RAD, France. Los resultados positivos fueron confirmados mediante inmunoblot (INNOLIA HIV Confirmation, Innogenetics), y mediante determinación de antígeno p24 (VIDAS HIV p24 II). Se seleccionaron 67 sueros de pacientes con resultados obtenidos mediante el sistema habitual utilizado en nuestro laboratorio (VIDAS HIV DUO) distribuidos de la siguiente forma: 20 sueros positivos con confirmatorio positivo; 24 sueros positivos con inmunoblot y antígeno p24 negativos; y 23 sueros negativos mediante EIA.

Resultados: Tanto los sueros positivos con confirmatorio positivo como los sueros negativos por el primer sistema fueron corroborados por el segundo sistema. De los 24 resultados positivos por el sistema 1 que no fueron corroborados por inmunoblot y antígeno p24, solamente uno ofreció resultado positivo por el sistema 2.

Conclusiones: De acuerdo con los resultados obtenidos, ambos sistemas muestran una sensibilidad similar, pero el sistema 1 adolece de una especificidad sensiblemente menor, con una mayor frecuencia de falsos positivos, que repercute en un mayor gasto en pruebas confirmatorias.

460

COBAS CORE HIV COMBI EIA (ROCHE) DETECCIÓN CONJUNTA DE AG P24 Y ACHIV1-2 ¿MEJOR QUE COBAS CORE II ANTI HIV 1+2+0 (ROCHE)?

J. Gómez, I. García-Bermejo, C. Aldea, C. García y J.R. Domínguez

Hospital Universitario de Getafe. Servicio de Microbiología. Getafe, Madrid.

Objetivo: Comparar los resultados obtenidos con una técnica de EIA de detección conjunta de Ag p24 HIV-1 y Ac HIV1-2 para el diagnóstico serológico de la infección por HIV, con otra técnica de EIA del mismo fabricante únicamente diseñada para la detección de anti HIV 1-2 y evaluar sus posibles aportaciones en la práctica diaria.

Métodos: Se estudiaron 227 sueros remitidos para estudio serológico de HIV, efectuado por EIA COBAS CORE II anti HIV 1+2+0 (Roche) (CC), paralelamente los mismos sueros fueron ensayados por otro EIA, COBAS CORE HIV combi (Roche) (CCcombi). Los sueros reactivos por alguna de las dos técnicas de EIA se confirmaron por un Inmunoblot (INNO-LIA HIV Innogenetics) efectuándose, asimismo, la detección de Ag p24 INNOTEST HIV Antigen (Innogenetics), con confirmación adicional por neutralización.

Resultados: 32 sueros fueron reactivos por CC y 28 por CCcombi. Los sueros reactivos por ambas técnicas fueron 22 (9,7%), todos ellos eran anti HIV 1-2 reactivos y confirmados con LIA y 2 (9%) presentaban simultáneamente Ag p24 positivo. Un suero fue únicamente reactivo por CCcombi, el cual no tenía Ac específicos detectables siendo solamente Ag p24 positivo. En 217 sueros los resultados fueron coincidentes por ambas técnicas (concordancia 95,6%). La S y E con CC fue 95,8% y 95,3% respectivamente, con VPP 71,8% y VPN 99,5%, en tanto que la S y E con CC combi fue 100% y 97,6% respectivamente, siendo el VPP 82% y VPN 100%.

Conclusiones: CCcombi (Roche) mejora la S y E de CC (Roche) para realizar el diagnóstico serológico de HIV, permitiendo detectar la infección más precozmente y antes de la aparición de los anticuerpos específicos. Reduce el número de reactividades inespecíficas, disminuyendo el número de pruebas adicionales a realizar en el laboratorio, con el consiguiente ahorro de recursos económicos. De especial aplicación en el estudio serológico de personas con factores de riesgo conocido y en recién nacidos de madres infectadas por el HIV.

461

VALORACIÓN DE UN EIA DE CUARTA GENERACIÓN PARA LA DETECCIÓN DE ANTI-HVC. COMPARACIÓN CON UN EIA DE TERCERA

C. Aldea, J. Gómez, C. García, I. García-Bermejo y J.R. Domínguez

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Getafe, Madrid.

Objetivo: Estudiar la presencia de anti-HVC con una técnica de EIA de 4ª generación y comparar los resultados con un EIA de 3ª, para valorar su aplicación en la rutina del laboratorio clínico.

Métodos: Se estudiaron 272 sueros, 159 pertenecientes a población general y 113 de pacientes con algún factor de riesgo, previamente procesados para estudio de anti-HVC por la técnica utilizada habitualmente en nuestro laboratorio (ORTHO HCV 3.0 ELISA Chiron), los cuales se ensayaron posteriormente con un EIA de 4ª (Innotest HCV Ab-IV Innogenetics). Todos los sueros reactivos por EIA se confirmaron con un inmunoblot (INNO-LIA HCV AB III Innogenetics), realizándose el estudio de RNA-VHC por RT-PCR (HCV v 2.0 Roche) a los sueros con resultados discrepantes en el EIA o no concluyentes en la prueba confirmatoria.

Resultados: De los 272 sueros estudiados, 132 fueron positivos y 136 negativos por ambas técnicas, concordancia 98,5%. Se obtuvieron 4 sueros discrepantes en los resultados de EIA; 2 de ellos con resultado negativo en la prueba confirmatoria y otros 2 con resultado indeterminado. Los 4 sueros fueron RNA-VHC negativo. La S y E del EIA de 4ª fue 100%, siendo en el EIA de 3ª 97% y 100% respectivamente. El VPP obtenido con el EIA de 4ª fue 100% y en el EIA de 3ª 97%. El VPN fue el 100% por los dos ensayos.

Conclusión: En nuestro estudio, el EIA de 4ª generación puede mejorar los resultados obtenidos respecto a la utilización de los EIA de 3ª en el cribado de anti-HVC. La alta S y E obtenidas, junto con el VPN puede suponer una reducción de la carga de trabajo del laboratorio, al disminuir el número de reactividades inespecíficas en la población atendida.

462

DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR VHC EN PACIENTES VIH+

J. González-Castillo, B. Díaz, M.J. Nuñez, M.J. Téllez, V. Roca y A. Suárez

Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Objetivo: Determinar la incidencia y características de los pacientes VIH+ que presentando infección por VHC muestran un falso negativo en la detección de anticuerpos en sangre.

Métodos: Estudio transversal a partir de 104 pacientes que presentan coinfección por VIH y VHC. Se recogieron datos epidemiológicos, situación inmunológica, ARN, genotipo y presencia de anticuerpo contra el virus de la hepatitis C, momento del diagnóstico de cada una de las infecciones (VIH y hepatitis) y estadio A de Child.

Resultados: De entre los 104 pacientes analizados en 6 (5,76%) casos se observó que presentaban anticuerpos negativos y el diagnóstico se estableció por la determinación de ARN del VHC en sangre. De entre estos 4 eran varones y 2 mujeres. La vía de contagio fue la ADVP en 4 casos y la vía sexual en 2. El genotipo más frecuente fue el 1. Todos presentaban un estadio A de Child. La media de linfocitos CD4 nadir era de 310 ± 157 , la media de linfocitos CD4 en ese momento de 500 ± 148 y en todos ellos la carga viral fue indetectable. En 1 caso el diagnóstico de ambas infecciones se realizó de manera simultánea en el tiempo, mientras en los otros 4 casos el diagnóstico de infección por VHC se demostró entre un mínimo de 5 y un máximo de 12 años después del diagnóstico de la infección por VIH.

Conclusiones: La infección por VHC es actualmente una de las principales causas de ingreso hospitalario y de mortalidad en estos sujetos. Es de vital importancia la realización de un correcto diagnóstico etiológico en presencia de hepatopatía. Es necesario considerar la realización de una determinación de ARN del VHC en pacientes con hipertransaminemia persistente a pesar de que la determinación de anticuerpos en sangre sea negativa, debido a que existe un número de falsos negativos no despreciable en la realización de serologías entre los sujetos VIH+, que en nuestro estudio alcanza el 5,76%, incluso en pacientes con cifras aceptables de linfocitos CD4+.

462 bis

COMPARACIÓN ENTRE DOS MÉTODOS DE DETECCIÓN DE ADN-VHB: COBAS AMPLICOR (ROCHE) Y GEN-ETI-K DEIA (DIA SORIN)

S. Suárez, F. García, R. Daza, M. Álvarez, N.M. Martínez, F. García Jr., M.C. Bernal, M.C. Maroto y G. Piédrola

Hospital Clínico San Cecilio. Granada.

Objetivos: Comparar la sensibilidad del ensayo de detección cuantitativa COBAS AMPLICOR (Roche) y un método de PCR casera, cualitativo, con hibridación en microplaca (GEN-ETI-K DEIA), para la detección de DNA de VHB.

Material y métodos: Estudiamos 52 pacientes con hepatitis B crónica y criterios clínicos de actividad de la enfermedad a los que se solicitaba determinación de DNA-VHB. La extracción del DNA se realizó siguiendo el protocolo de AmpliCor para la realización de ambas técnicas. Tras ello fueron sometidas a amplificación, hibridación y detección por PCR mediante el ensayo cuantitativo de COBAS AMPLICOR (con sensibilidad de 200 copias/ml, con rango dinámico entre 200 y 200.000 copias/ml y de 10^9 si se realiza dilución). Fueron también amplificadas por PCR casera con primers para la región pre core/core y realizando hibridación en microplaca por la técnica GEN-ETI-K DEIA (cualitativo).

Resultados: De los 52 pacientes, el 82,6% (n = 43) fueron positivos para ROCHE y por el otro método sólo el 40,38% (n = 21), que coincidían con los casos que presentaban una carga viral superior a 10.800 copias/ml según ROCHE. 11 de los 22 casos en los que no coincidían ambos métodos presentaban una carga viral que oscilaba entre 1.000 y 10.800 copias/ml; el resto oscilaban entre 200 y 1.000 copias/ml.

Conclusiones: El ensayo COBAS AMPLICOR ha demostrado presentar una sensibilidad de detección superior al método de PCR casera con hibridación en microplaca de GEN-ETI-K DEIA.

463

COMPARAR LA DETECCIÓN DEL RNAm pp67 Y ANTIGENEMIA pp65 EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR CITOMEGALOVIRUS

M. Chávez, A.I. Aller, J.C. Alados, J.L. de Francisco, C. de Miguel y L. Calbo

Servicio de Microbiología, Hospital del SAS. Jerez de la Frontera, Cádiz.

Objetivo: Comparar la detección del RNAm pp67 con la antigenemia pp65 en el diagnóstico de la infección por Citomegalovirus (CMV) en pacientes transplantados de médula ósea (m.o.).

Material y método: Durante un periodo de 1 año (noviembre 2000-octubre 2001), hemos recibido un total de 412 muestras de sangre procedentes de 116 pacientes transplantados de m.o. (transplantes autólogos y heterólogos). En cada paciente (Paci), las muestras fueron tomadas inmediatamente después del trasplante y semanalmente postrans-

plante durante un periodo de 3 meses. De manera simultánea se realizó la antigenemia (Anti) mediante test de inmunofluorescencia (Monofluo Kit CMV, Pasteur) y la detección del RNAm del CMV mediante técnica de biología molecular (Nuclisens, Organon Teknika).

Resultados: Del total de las muestras analizadas, 406 (98,5%) fueron negativas para la antigenemia y 399 (96,8%) negativas para el RNAm. Sólo 6 muestras (1,2%) fueron positivas para la antigenemia, pertenecientes a 4 pacientes distintos, y 13 muestras (3,1%) fueron positivas para el RNAm, pertenecientes a 6 pacientes distintos.

Pacientes con muestras + y concordancia entre ambas técnicas

Paci.	Semana 0		Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4	
	Anti	RNA								
1	+	+	-	+	-	-				
2	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
3	+	+	+	+	-	-	-	+		

Al repetir el RNAm en los otros 3 pacientes donde la técnica había dado positiva (con antigenemia negativa), éste fue negativo.

Conclusiones: 1) Observamos buena correlación entre ambas técnicas. 2) De los pacientes infectados, el RNAm fue más precoz en 1 de ellos y siempre se negativizó después que la antigenemia.

464

ANTICUERPOS DE ALTA AVIDEZ EN EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE CMV

R. Ortiz de Lejarazu, M. Mantecón, C. Avellaneda, M.L. Moreno, C. Labayru, J.M. Eiros y A. Rodríguez Torres
Microbiología, H.C.U. Valladolid.

Objetivo: El diagnóstico serológico de infección en curso o reciente por CMV es problemático ya que hay que demostrar la seroconversión de la IgG específica. La IgM tiene relativa utilidad. La detección de IgG específicas de alta avidéz que aparecen meses después de la infección podría contribuir a mejorar el rendimiento de este diagnóstico. El objetivo de este estudio es describir el rendimiento de la detección de IgG anti-CMV de alta avidéz (Aav) para el diagnóstico de infección reciente.

Material y métodos: Se seleccionaron 203 sueros para diagnóstico serológico de CMV, 100 sueros con IgG positiva exclusivamente y otros 103 que ofrecían dificultad diagnóstica debido a la presencia simultánea de IgM+ o dudosa e IgG positiva. Se realizó el test de avidéz de CMV: VIDAS IgG Avidity (Biomerieux) tratando con urea post incubación. Se ensayaron diferentes diluciones en los sueros con valores de IgG ≥ 400 UFR.

Resultados: Entre los sueros seleccionados con IgM negativa, al rededor del 70% de las IgG tenían alta avidéz y cerca del 95% tenían una avidéz media alta. Sin embargo los sueros IgM+ estudiados con valores altos de IgG (> 400) presentaban una mayor frecuencia de anticuerpos de Aav lo que permite descartar una infección reciente ($p < 0,03$). En los casos de IgM dudosas hay un porcentaje mayor de anticuerpos de Aav (72,7%) que entre los sueros con IgM positiva (41,9%) ($p < 0,01$). Al menos un 42% de los sueros con IgG positiva e IgM positiva tenían IgG de Aav lo que supone infecciones de más de tres meses de antigüedad. Finalmente, la dilución de suero que permitió una mejor estimación de la avidéz fue al 1/10.

Conclusiones: El test de avidéz facilita describir como infecciones antiguas al 70% de las muestras que presentan IgG exclusiva y permite identificar como infecciones recientes entre un 25-50% de los sueros con IgG positivas e IgM+ o dudosa, pudiendo constituir un marcador válido aunque no definitivo, en la cronología serológica de la infección por CMV.

465

VALORACIÓN DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN EL DIAGNÓSTICO DE LA RETINITIS VÍRICA

M.T. Tórtola, T. González, J.M. Manresa, A. Hernández* y G. Codina

Servicio de Microbiología, Hospitals Vall d'Hebron, Barcelona.

**Servicio de Microbiología, Hospital Germans Trias i Pujol. Badalona.*

Introducción: Los herpes virus, herpes virus simplex (HSV), varicela zoster (VZV) y citomegalovirus (CMV) son la causa de una gran morbilidad ocular. Mientras que HSV y VZV pueden causar retinitis tanto en individuos inmunocompetentes como inmunodeprimidos, la retinitis por CMV es la infección retiniana más frecuente en los pacientes con SIDA.

Objetivo: Valorar la PCR en muestras de humor acuoso y humor vítreo para el diagnóstico de la retinitis vírica.

Material y métodos: Desde el año 1999 hasta el año 2001 se estudiaron un total de 7 muestras (6 humor acuoso y 1 humor vítreo) procedentes de 6 pacientes (5 varones y 1 mujer). En todas ellas se investigó la presencia de 6 virus del grupo herpes (HSV1, HSV2, CMV, EBV, VZV y HHV6) mediante la amplificación por reacción en cadena de la polimerasa de un fragmento de 194 pb del gen de la DNA polimerasa viral, cuya secuencia esta altamente conservada y es distinta para cada uno de los 6 virus estudiados.

Resultados: De las 7 muestras estudiadas se detectaron virus en 3 de ellas. En dos muestras de humor acuoso se detectó CMV y HSV2, estas 2 muestras procedían de 2 pacientes con necrosis retiniana. El paciente en el que se detectó CMV era un paciente seropositivo a VIH con un recuento de CD4 de 8. El paciente en el que se detectó HSV2 era un paciente sin ninguna enfermedad de base. La tercera muestra positiva fue un humor vítreo en el que se detectó EBV, el paciente presentaba una panuveítis y retinitis, y además tenía un adenocarcinoma de pulmón.

Conclusiones: Aunque el número de muestras estudiado es bajo el porcentaje de positividad obtenido (42,8%) apoya la utilización de la PCR en el diagnóstico de la retinitis vírica. Sería recomendable la investigación de los virus más frecuentes causantes de retinitis víricas en las muestras oculares con dicha sospecha diagnóstica.

466

REACCIONES CRUZADAS EN LA SEROLOGÍA DE CITOMEGALOVIRUS (CMV)

M.C. Domínguez, F. de Ory*, M. Barea, F. Miranda, M.C. Balbín y J.L. Castaño

Unidad de Microbiología. Hospital San Agustín. Linares, Jaén.

**Centro Nacional de Microbiología. Majadahonda, Madrid.*

Objetivos: Contrastar los resultados obtenidos en la detección de anticuerpos IgM frente a CMV utilizando el ensayo AxSYM CMV IgM (Abbott), con los observados por ELISA indirecto y de captura y analizar, en las discrepancias, las posibles causas infecciosas más comunes.

Métodos: Entre diciembre 99 y julio 01 se procesaron 606 sueros con sospecha clínica de infección reciente por CMV mediante el ensayo AxSYM CMV IgM (MEIA). En los sueros con resultado positivo se realizó detección de IgM anti-CMV por ELISA indirecto (Dade Behring) y de captura (Medac) y avidéz de IgG específica frente a CMV (Radim; Dade Behring). En los sueros con resultados discordantes entre métodos se investigó infección reciente por virus de Epstein-Barr (VEB) mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), detectando IgM e IgG anti-VCA y anti-EBNA (Gull) y anticuerpos heterófilos por aglutinación de látex (Biokit); virus *Herpes*

simplex (VHS) determinando IgM por IFI (Gull), y Virus Herpes Humano tipo 6 (VHH-6) detectando IgM con IFI en aquellos casos con Historia Clínica compatible.

Resultados: De los 606 sueros analizados, 87 (14%) dieron resultado positivo en el ensayo AxSYM (índice $\geq 0,500$) y 13 sueros, lecturas en zona gris (índice 0,400-0,499). La reactividad IgM anti-CMV se confirmó en 21 sueros con resultado positivo (24%), 14 de los cuales mostraban IgG de baja avididad. Todos los sueros con resultados en zona gris se confirmaron como negativos y mostraban IgG de alta avididad. Entre las causas infecciosas estudiadas que pudieran producir reacciones cruzadas encontramos la infección reciente o reactivación por VEB en el 37% de los casos (29/79). Se evidenció infección reciente por VHH-6 en 2 casos. No se encontró ningún resultado positivo de VHS.

Conclusiones: Detectamos resultados positivos falsos en el ensayo IgM de CMV por AxSYM. La causa más frecuente de estos falso positivos fue la infección o reactivación por VEB.

Sesión 22

Resistencia a antimicrobianos

467

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS INVASIVAS DE *ESCHERICHIA COLI* EN ESPAÑA EN 2001: SISTEMA EUROPEO DE VIGILANCIA EARSS

J. Oteo*, J. Campos*, F. Baquero** y el Grupo de EARSS España (ver listado)

CN Microbiología, Ins. Salud Carlos III*. H. Ramón y Cajal**. Madrid.

Introducción: La C.E. fundó en 1998 la Red Europea para el control de la resistencia a antibióticos (ABs) en patógenos invasivos (EARSS). Presentamos los datos de *E. coli* en España en 2001 (enero-agosto).

Material y métodos: Participaron 28 hospitales con representación proporcional a su población de las principales regiones españolas (cobertura poblacional aproximada de 8 millones de personas). Cada laboratorio aisló, identificó y estudió la sensibilidad con sus métodos de rutina. El control de calidad fue realizado por NEQUAS. Se rellenó un protocolo por cada aislamiento y paciente, en el que constaban datos clínicos, del hospital y servicio en el que se realizó el aislamiento así como de su sensibilidad.

Resultados: En 1.000 pacientes se aisló *E. coli* invasivo. La resistencia (%) (R) y sensibilidad intermedia fueron: Ampicilina (Amp) 60,2 y 0,4; Cefotaxima (CTX) 0,7 y 0,9; Gentamicina (G) 6,6 y 0,3; Ciprofloxacino (CIP) 16,4 y 0,8; cotrimoxazol (SXT) 32 y 0,8. El porcentaje de R a ABs en cepas sensibles a Amp comparado con cepas resistentes fue: CIP 4,8 vs 24,8% ($p < 0,01$); G 2,9 vs 10,2% ($p < 0,01$); SXT 10,1 vs 42,4% ($p < 0,01$) y CTX 0,3 vs 1,1% ($p = 0,06$). La R a CIP en niños ≤ 14 años fue de 3,1% vs 16,2% en pacientes > 14 años ($p < 0,05$). El 4,5% de las cepas presentaron una CMI > 1 mg/L para CTX.

Conclusiones: 1) Elevada R a distintos ABs de primera elección en el tratamiento de infecciones producidas por este patógeno; la R a Amp y CIP en España en *E. coli* invasivo se encuentra entre las más elevadas de los países europeos de la red EARSS (www.earss.rivm.nl). 2) La R a Amp se asocia a R a otros ABs. 3) En el 4,5% de los aislamientos se debería descartar la presencia de BLEAs. 4) La R a CIP en niños es significativamente menor que en adultos, sin embargo el 9,3% de los *E. coli* invasivos en niños son R o intermedios a CIP.

468

ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD A QUINOLONAS EN CEPAS AISLADAS DE UROCULTIVOS DE ORIGEN EXTRAHOSPITALARIO

N. Montiel, I. López, M. Hortas, A. Del Arco, J.L. Prada, J. de la Torre, M. Pérez y M.P. Molina
Hospital Costa del Sol. Marbella (Málaga).

Objetivos: Estudiar la sensibilidad de distintas cepas de microorganismos aislados con mayor frecuencia de muestras de orina de origen extrahospitalario.

Material y métodos: Hemos estudiado la sensibilidad de 1837 cepas aisladas con mayor frecuencia de muestras de orina enviadas a nuestro laboratorio desde el Distrito Sanitario Costa del Sol, en un período de tiempo de un año (enero-diciembre 2000). Las orinas se siembran en agar CLED para realizar recuento y, posteriormente, se realizan las pruebas de identificación y antibiograma mediante el sistema automático MicroScan (Walkaway, DADE-Behring); se analizaron las CMI frente a Ciprofloxacino (Cp), Ofloxacino (Of), Norfloxacino (Nxn) y Ác. Nalidíxico (Na). Se toman como criterio de sensibilidad y resistencia las que señala el fabricante. Se han estudiado 1148 cepas de *E. coli*, 114 de *K. pneumoniae*, 151 de *P. mirabilis*, 27 de *E. cloacae*, 14 de *Ent. aerogenes*, 34 de *K. oxytoca* y 67 de *P. aeruginosa*. Dentro de las cepas de Gram + hemos estudiado 172 de *E. faecalis*, 54 de *St. agalactiae*, 43 de *S. aureus* y 13 de *S. saprophyticus*.

Resultados: Cabe destacar que para las cepas de *E. coli* se obtiene una sensibilidad del 74,5% para Cp y Of, 74,25% para Nxn y 62,75% para Na. Para el resto de las cepas de Enterobacterias la sensibilidad está entre el 86,5% y el 95,75% para Cp, Of y Nxn, y del 65,75% al 87,5% para Na. Con respecto a las cepas de *Ps. aeruginosa* se obtiene una sensibilidad del 82,25% para Cp, 69,5% para Of, 79,75% para Nxn y sólo del 16% para Na. Para las cepas de Gram+ estudiados destacamos que la sensibilidad está entre el 82,75% al 95% para Cp y del 81 al 95% para Of.

Conclusiones: Según nuestros datos existe un porcentaje importante de resistencias (alrededor del 30%) a las quinolonas en los microorganismos aislados con mayor frecuencia en ITU en el medio extrahospitalario. Esto podría deberse al abuso que ha existido en Atención Primaria de las quinolonas, lo que plantearía una revisión del tratamiento empírico.

469

DIVERSIDAD CLONAL Y RESISTENCIA A QUINOLONAS Y β -LACTÁMICOS EN CEPAS DE *E. COLI* DE DIFERENTES ORÍGENES

Y. Sáenz, L. Briñas, M. Zarazaga, F. Ruiz-Larrea y C. Torres.

Área de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de La Rioja. Logroño.

Objetivo: Analizar la diversidad clonal y los mecanismos de resistencia a quinolonas y β -lactámicos en cepas de *E. coli*, corresistentes a ácido nalidíxico (NAL^R) y ampicilina (AMP^R), de origen humano, animal y alimentario.

Material y métodos: Se estudiaron 44 cepas de *E. coli* NAL^R y AMP^R, aisladas de alimentos (n = 10) y muestras fecales de humanos (n = 6) y de animales sanos (pollos, 21; cerdos, 4; perros, 3). La diversidad clonal se estudió mediante PFGE (*Sfi*I) y la sensibilidad a antibióticos se determinó por dilución en agar. Mediante PCR y posterior secuenciación, se analizaron las mutaciones en los genes *gyrA*, *gyrB* y *parC* (mecanismo de resistencia a quinolonas), así como la presencia y secuencia de genes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} y *bla*_{OXa} implicados en la resistencia a β -lactámicos. Se estudió la presencia de β -lactamasas de espectro ampliado (BLEAs) mediante la técnica de doble disco.

Resultados: Se detectaron por PFGE 39 patrones distintos entre los 44 aislados (de 21 aislados de pollos, 16 patrones distintos). En 39 cepas se estudiaron los mecanismos de resistencia. *Quinolonas:* Todas las cepas presentaron al menos

una mutación en *gyrA*: sencillas en S83L (n = 27) o en D87 (D87N, 2 cepas; D87Y, 1 o D87G, 1) y dobles S83L+D87N (n = 6), S83L+D87H (n = 1) o S83L+D87Y (n = 1). No se detectaron mutaciones en *gyrB*. Se observaron mutaciones sencillas en *parC* en diez de las 39 cepas (S80R, n = 2; S80I, n = 7; E84V, n = 1) y doble mutación en una cepa (S80L+E87G). Se ha observado una correlación entre el número de mutaciones y el valor de CMI a ciprofloxacina. β -lactámicos: se detectó el gen *bla_{TEM}* en 34 de las cepas y el *bla_{OXA}* en 2 de las cinco restantes. Ninguna cepa poseía genes *bla_{SHV}* ni produjeron BLE-As. La hiperproducción de AmpC es el mecanismo de resistencia en una de las cepas en la que no se detectó ninguno de los genes *bla* estudiados. Todos los secuenciados (n = 20) menos uno, coinciden con *bla_{TEM-1}* en sus variantes *bla_{TEM-1a}* (n = 4) y *bla_{TEM-1b}* (n = 15). En una cepa de origen alimentario se encontró una secuencia *bla_{TEM}* no descrita anteriormente.

470

RESISTENCIA A QUINOLONAS ASOCIADA A PERDIDA DE FACTORES DE VIRULENCIA EN *ESCHERICHIA COLI*

J. Ruiz, K. Simon, J.P. Horcajada, M. Velasco, A. Moreno, M. Barranco, J. Mensa y J. Vila

ICII, Hospital Clínic-IDIBAPS, Barcelona.

Objetivos: Analizar las relaciones existentes entre resistencia a quinolonas y presencia/ausencia de genes codificantes para diferentes factores de virulencia en cepas uropatógenas de *Escherichia coli*.

Metodología: Se analizaron 58 cepas de *E. coli* causantes de cistitis (29 sensibles a quinolonas y 29 resistentes) y 42 cepas causantes de pielonefritis (21 sensibles y 21 resistentes). La presencia de genes codificantes para hemolisina (*hly*), aerobactina (*aer*), *sat*, fimbrias tipo 1 (*fim1*), y fimbrias P, se detectó mediante PCR con cebadores específicos. La expresión de fimbrias tipo 1 se estudió por técnicas de aglutinación y la de hemolisina mediante siembra en agar sangre. La presencia de mutaciones en *gyrA* se estableció mediante PCR y posterior RFLP con *HinfI*. El análisis estadístico se efectuó mediante test exacto de Fisher y chi cuadrado.

Resultados: Las cepas resistentes a quinolonas presentaban una alteración en el codon 83, ausente en las cepas sensibles. Se encontraron diferencias significativas (p = 0,02) en la prevalencia de *cnf1* y *hly*, entre cepas sensibles y resistentes a quinolonas causantes de pielonefritis, siendo más prevalentes entre las sensibles. Similarmente se detectaron diferencias significativas en la presencia de los genes *sat* (p < 0,05), *cnf1* y *hly* (p < 0,005) así como en la expresión de fimbrias tipo 1 (p < 0,02) en cepas causantes de cistitis. Al igual que acontecía anteriormente, la mayor prevalencia de estos factores de virulencia se daba entre las cepas sensibles a quinolonas. El único factor de virulencia, analizado, cuya presencia se incrementó entre las cepas resistentes a quinolonas fue *aer*, aunque el incremento no fue significativo. En todos los casos se detectaron concomitantemente *cnf1* y *hly*.

Conclusiones: La resistencia a quinolonas se asocia con una menor presencia de ciertos factores de virulencia (*hly*, *cnf1*, *sat*) o con una menor expresión de otros (*fim1*).

471

MUTACIONES EN *gyrA* Y *parC* NO SON RELEVANTES EN LA ADQUISICIÓN DE RESISTENCIA A QUINOLONAS EN *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*

A. Ribera*, A. Doménech-Sánchez**, J. Ruiz*, V.J. Benedí**, M.T. Jiménez de Anta y J. Vila*

*Servicio de Microbiología, Hospital Clínic. Barcelona.

**Departamento de Biología. UIB. Palma de Mallorca.

Objetivo: En este estudio se analizaron los mecanismos moleculares de resistencia a quinolonas en 22 aislamientos clínicos de *S. maltophilia* no relacionados epidemiológicamente.

Metodología: Se analizó la presencia de mutaciones en la región QRDR de los genes *gyrA* y *parC* mediante PCR y posterior secuenciación del amplicón

Paralelamente, se calcularon mediante el método de microdilución las CMI de ácido nalidíxico, ciprofloxacino y norfloxacino, en presencia y ausencia de un inhibidor de bombas de expulsión activa (fenil-arginin- β -naftilamida).

Resultados: El amplicón del gen *gyrA*, es de 335pb e incluye los codones del aminoácido 46 al 142 (siempre teniendo en cuenta la numeración de *Escherichia coli*). Por otro lado, el amplicón del gen *parC*, es de 272pb, e incluye los codones del aminoácido 62 al 138. Los resultados obtenidos mostraron que tanto las cepas sensibles como las resistentes presentaban una Gln en la posición 83 del gen *gyrA*, en lugar de presentar los aminoácidos usualmente encontrados, Ser o Thr. No se ha encontrado ninguna mutación ni en *gyrA*, ni en *parC*, en las zonas de la región QRDR donde previamente se han descrito mutaciones en otros microorganismos. Por otro lado, los resultados con el inhibidor sugieren la presencia de una bomba de expulsión inhibible por este compuesto, capaz de afectar a la CMI del ácido nalidíxico pero no a la de ciprofloxacino ni a la de norfloxacino.

Conclusión: Al no haber diferencias en la zona amplificada entre cepas sensibles y resistentes, se descartaría el papel de la presencia de mutaciones en la QRDR de *gyrA* y *parC* como principal responsable de la resistencia a quinolonas. Así otros mecanismos tales como la presencia de bombas de expulsión activa o la presencia de mutaciones en otras dianas, como *gyrB* y *parE*, podrían explicar los elevados niveles de resistencia a quinolonas que este microorganismo presenta.

472

MUTACIONES EN *gyrA* EN CEPAS CLÍNICAS DE *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* CON DIVERSOS NIVELES DE RESISTENCIA A QUINOLONAS

M. Trigo Daporta, M.A. Alonso Manzanares, F.J. Sánchez y J.L. Muñoz Bellido

Dpto. de Microbiología. Hospital Universitario de Salamanca.

Objetivos: Determinar las mutaciones en el gen *gyrA* que puedan estar relacionadas con incremento de la resistencia a fluoroquinolonas en cepas clínicas de *Stenotrophomonas maltophilia*.

Métodos: Cepas: 11 cepas clínicas de *S. maltophilia*. **Antimicrobianos:** Se determinó la sensibilidad a ciprofloxacino (CFX), gatifloxacino (GFX) y clinafloxacino (CNFX) mediante dilución en agar. **Métodos moleculares.** Se amplificó un fragmento de 301 pb que presenta un alto grado de homología en la QRDR de *P. aeruginosa* y *E. coli*. Los amplificados obtenidos se secuenciaron mediante el método de Sanger.

Resultados: Las CIMs de las cepas estudiadas oscilaron entre 1 y 128 μ g/ml de CFX, 0,2-64 μ g/ml de GFX y 0,1-32 μ g/ml de CNFX. Todas las cepas mostraron un residuo de serina en posición equivalente a la 84 de *E. coli*. La mayor parte de las cepas mostraron una secuencia idéntica a la depositada en GenBank, con independencia de sus CIMs, a pesar de la diversidad de CIMs, que oscila, en el caso de CFX, entre 1 y 32 μ g/ml. Dos de las cepas registraron mutaciones. Una de ellas mostró un cambio de Ile a Val en la posición 112, y un cambio de Ala a Gly en la posición 131, con CIMs de 16 μ g/ml de CFX, 4 μ g/ml de GFX y 2 μ g/ml de CNFX. La cepa más resistente (CIMs de CFX 128 μ g/ml, GFX 64 μ g/ml y CNFX 32 μ g/ml) mostró un solo cambio, Val 112 a Ile.

Conclusiones: Todas las cepas mostraron secuencias idénticas en la zona en torno a la Ser84. La mayor parte de las cepas no presentan mutaciones en esta área. La mutación más frecuente parece ser el cambio de Val 112 a Ile, pero que no parece estar relacionado con altos niveles de resistencia, al menos de forma aislada, ya que aparece en cepas con CIMs muy distintas.

473

IMPORTANTE AUMENTO DE LA RESISTENCIA A NUEVAS FLUORO-QUINOLONAS EN EL GRUPO BACTEROIDES FRAGILIS ENTRE 1998 Y 2001

J. Oteo, J.L. Gómez-Garcés y J.I. Alós

Servicio de Microbiología, Hospital de Móstoles, Móstoles, Madrid.

Objetivos: Estudiar la sensibilidad a los principales anaerobios de 200 cepas del grupo *B. fragilis* aisladas en 1998 (n = 100) y 2001 (n = 100) de muestras de heces de portadores sanos y comparar los resultados.

Material y métodos: Se estudió la sensibilidad a clindamicina, cloramfenicol, meropenem, metronidazol, cefoxitina, amoxicilina/á. clavulánico, trovafloxacin y moxifloxacin, por el método de dilución en agar Wilkins-Chalgren. Las placas fueron incubadas durante 48 h a 35 °C en atmósfera anaerobia. Los resultados se interpretaron según criterios del NCCLS (M11-A4, 1997). Se procedió a la determinación de especie de las cepas resistentes a fluoroquinolonas mediante pruebas fenotípicas (API Rapid ID 32A).

Resultados: Todas las cepas probadas fueron sensibles a meropenem, metronidazol y cloramfenicol. El 49 y 56% de las cepas aisladas en 1998 y 2001 respectivamente fueron resistentes a clindamicina. Sólo el 46 y el 43% de las cepas aisladas en 1998 y 2001 respectivamente fueron sensibles a cefoxitina, siendo el 36% de ambos años intermedias. En 1998 ninguna cepa era resistente a moxifloxacin o trovafloxacin, mientras que en 2001 lo eran el 12%. De las 12 cepas resistentes a fluoroquinolonas, 6 eran *Bacteroides fragilis* y 3 *Bacteroides eggerthii*.

Conclusiones: 1) Alta prevalencia de resistencia a clindamicina, persistente en el tiempo. 2) Importante incremento en la resistencia a las nuevas fluoroquinolonas, del 0% en 1998 al 12% en 2001 (p < 0,01). 3) Meropenem, metronidazol y cloramfenicol muestran una excelente actividad *in vitro*.

474

MUTACIONES EN LA REGIÓN DETERMINANTE DE RESISTENCIA A QUINOLONAS (QRDR) DE gyrA EN H. PARAINFLUENZAE Y H. PARAPHRAPHILUS

M. Pérez-Vázquez, J. Campos y F. Roman

Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

Objetivo: Determinar el mecanismo de resistencia primario de cepas de *H. parainfluenzae* y *H. paraphrophilus* con sensibilidad disminuida a nalidixico y ciprofloxacina en comparación con cepas de referencia sensibles.

Material y métodos: 3 aislamientos clínicos de *H. parainfluenzae* (uno con sensibilidad reducida a ciprofloxacina y nalidixico: CMI a Cip de 0,25 µg/ml y a Nal de 32 µg/ml, aislado de una muestra quirúrgica y dos controles sensibles con CMI a Cip ≤ 0,03 µg/ml y a Nal ≤ 1,0 µg/ml); un aislamiento clínico de *H. paraphrophilus* (CMI a Cip de 0,12 µg/ml y a Nal 8 µg/ml, procedente de un hemocultivo) y dos cepas de referencia sensibles (*H. paraphrophilus* 2491 ATCC, *H. paraphrophilus* UK con CMI a Cip de 0,01 µg/ml y a Nal de 0,25 µg/ml). Se secuenció la QRDR del gen *gyrA* mediante la amplificación por PCR con primers diseñados en base a la secuencia conocida de *Haemophilus influenzae* Rd.

Resultados: En *H. parainfluenzae* se amplificó un fragmento de 321 pares de bases cuya traducción en aminoácidos presentó una homología del 100% con GyrA de *H. influenzae* desde el aminoácido 66 al 173; en *H. paraphrophilus* el fragmento amplificado fue de 300 pares de bases; en las cepas de referencia la homología con GyrA de *H. influenzae* desde el aminoácido 66 al 166 fue del 87%, en el aislamiento clínico de *H. paraphrophilus* con sensibilidad reducida a ciprofloxacina la homología fue del 96%. Ninguna de las cepas sensi-

bles de ambas especies presentó mutaciones en el QRDR del gen *gyrA*, por el contrario las cepas con sensibilidad reducida presentaron mutaciones en las posiciones habitualmente implicadas en resistencia a quinolonas en *H. influenzae*: *H. parainfluenzae* Ser (84) a Tyr, y *H. paraphrophilus* Ser (84) a Phe y Asp (88) a Asn.

Conclusiones: El mecanismo más probable de disminución de sensibilidad a quinolonas tanto en *H. parainfluenzae* como en *H. paraphrophilus* es el desarrollo de mutaciones puntuales en la secuencia de aminoácidos del QRDR de GyrA.

474 bis

ANÁLISIS DE LAS TOPOISOMERASAS II Y IV EN CEPAS ISOGÉNICAS IN VIVO E IN VITRO DE STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA CON DISTINTO NIVEL DE SENSIBILIDAD A LAS QUINOLONAS

S. Valdezate*, **, A. Vindel**, F. Baquero*, R. Cantón*

*Hospital Ramón y Cajal. **CNM., Instituto Carlos III, Majadahonda. Madrid.

Objetivo: Estudiar las posibles diferencias en las secuencias parciales de las topoisomerasas II y IV (responsables de la resistencia a quinolonas en otros microorganismos) en cepas de *S. maltophilia* isogénicas *in vivo* e *in vitro* con diferente nivel de sensibilidad a ciprofloxacina (CIP).

Métodos: Se seleccionaron tres parejas de cepas isogénicas de *S. maltophilia*, caracterizadas molecularmente por PF-GE, procedentes de tres pacientes, determinándose la actividad *in vitro* (dilución en agar, NCCLS) a diferentes quinolonas. Asimismo, se obtuvieron mutantes *in vitro* resistentes a CIP a partir de los aislamientos con menor valor de CMI a CIP y de la cepa de *S. maltophilia* ATCC 13637 (Doss y cols, JAC, 1995). Entre los mutantes *in vitro* obtenidos, se seleccionaron seis por cada pareja de cepas que presentaban un incremento gradual de la resistencia a CIP. En todas las cepas, aislamientos isogénicos *in vivo* y mutantes *in vitro*, se analizaron las secuencias correspondientes a los QRDR de *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *ParE*.

Resultados: Las tres parejas de cepas isogénicas *in vivo*, Sm112/Sm125 (CMI_{CIP} 0,5/16 µg/ml), Sm227/Sm226 (CMI_{CIP} 4/64 µg/ml) y Sm230/Sm204 (CMI_{CIP} 4/128 µg/ml), presentaron entre sí idénticas secuencias de nucleótidos en los fragmentos QRDR de *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *ParE*. Asimismo, en los mutantes *in vitro* procedentes de las cepas Sm112 (rangos de CMI_{CIP} 2-64 µg/ml), Sm227 (rangos de CMI_{CIP} 8-64 µg/ml), Sm230 (rangos de CMI_{CIP} 32-128 µg/ml) y ATCC 13637 (rangos de CMI_{CIP} 2-64 µg/ml), se obtuvieron idénticas secuencias de *gyrA* y *parC* a las de las cepas isogénicas originales. **Conclusión:** El incremento de la resistencia a las quinolonas en cepas de *S. maltophilia* isogénicas no está relacionado con mutaciones en las secuencias QRDR de las topoisomerasas II y IV.

475

MUTACIONES RESPONSABLES DE LA RESISTENCIA A CIPROFLOXACINA EN CEPAS ESPAÑOLAS DE NEISSERIA GONORRHOEAB. Alcalá¹, F. Vázquez², E. Martín¹, I. Antolín³, J. Cacho⁴, C. Cuevas⁵, G. Sauca⁶, J.A. Vázquez¹¹Instituto de Salud Carlos III. Madrid. ²Hosp. Monte Naranco.³H.U. de Getafe. Madrid.⁴H.U. de la Princesa. Madrid. ⁵H.U. de la Princesa. Madrid. ⁶H. de Mataró. Barcelona.

Entre agosto de 1992 y abril del 2001 se recibieron en el laboratorio de Referencia de *Neisserias* un total de 744 cepas de *Neisseria gonorrhoeae*. El análisis de la sensibilidad frente a antimicrobianos reveló la existencia de 8 cepas con alto nivel de resistencia a ciprofloxacina (4-> 64 mg/l). El análisis de las

regiones responsables de la resistencia a quinolonas (QRDR) para los genes *gyrA* y *parC* (responsables de codificar la DNA girasa y la topoisomerasa IV respectivamente) reveló, en la mayor parte de las cepas, la aparición de tres mutaciones particularmente asociadas con elevados niveles de resistencia. Dichas mutaciones consistían en la sustitución de un residuo de serina (Ser) en posición 91 por fenilalanina (Phe), aspártico (Asp) en posición 95 por glicina (Gly) para el gen *gyrA* y Ser en posición 87 por arginina (Arg) para el gen *parC*. Estas mutaciones fueron idénticas para todas las cepas aisladas en Oviedo, además de la aislada en León, lo que hace pensar en la existencia de un posible brote. Para otras dos de las cepas estudiadas, una aislada en Madrid y otra en Barcelona, la mutación asociada al gen *parC* fue diferente, afectándose únicamente al residuo de Asp en posición 86 y reemplazándolo, en este caso, por asparagina (Asn). Por último decir que se encontró una única cepa, aislada en Madrid, que resultó tener los valores de resistencia más bajos (CMI: 4 mg/l), sin mutación en la región del gen *parC* y cuya mutación para el gen *gyrA* suponía el reemplazamiento de Asp en posición 95 por Asn. La descripción de estas 8 cepas resistentes en el periodo comprendido entre abril del 2000 y abril del 2001 hace pensar en la posibilidad de que la resistencia a estos agentes antimicrobianos sea en poco tiempo un grave problema a resolver. Por ello, la caracterización genética de las cepas, así como el seguimiento del nivel de resistencia encontrado son aspectos muy importantes para un mayor conocimiento de la epidemiología del gonococo.

476

DISEMINACIÓN DE UN CLON DE *YERSINIA ENTEROCOLÍTICA*, CON DIFERENTE SUSCEPTIBILIDAD AL ÁCIDO NALIDÍXICO, EN LA COMUNIDAD DE MADRID

J. Sánchez*, M.M. Navia*, R. Martínez**, B. Orden**, R. Millán**, J. Ruiz* y J. Vila*

*Hospital Clínic-IDIBAPS. Barcelona. **Clínica Puerta de Hierro (C.E. Argüelles). Madrid.

Objetivos: Estudiar las relaciones epidemiológicas existentes en 10 aislamientos clínicos de *Yersinia enterocolitica* sensibles y resistentes al ácido nalidíxico.

Material y métodos: Se estudiaron 10 cepas de *Y. enterocolitica* procedentes de heces de pacientes con diarrea en la Comunidad de Madrid (Laboratorio de Argüelles). El análisis epidemiológico se realizó mediante la digestión del ADN cromosómico, utilizando enzimas de restricción de baja frecuencia de corte y su posterior separación en campo pulsante (PFGE) y mediante REP-PCR. La susceptibilidad al ácido nalidíxico se determinó mediante microdilución. Por último, el estudio de las mutaciones existentes en *gyrA* y *parC* se realizó mediante la amplificación de la región determinante de la resistencia a quinolonas (RDRQ) de dichos genes y su posterior secuenciación.

Resultados: Tanto mediante campo pulsado como mediante REP-PCR, se obtuvieron patrones similares de todas estas cepas con no más de una variación entre ellos. Todas estas cepas, aisladas a lo largo de ocho meses se encontraron difundidas en ocho poblaciones de la Comunidad de Madrid.

Seis de las cepas analizadas se mostraban resistentes al ácido nalidíxico. Todas ellas presentaban mutaciones en la región determinante de la resistencia a quinolonas (RDRQ) del gen *gyrA*: cuatro cepas con una mutación en el codón del aminoácido Ser-83 que producía un cambio a Arg, una cepa con un cambio de Ser-83 a Ile y una última cepa con la variación Asp-87 a Tyr. No se detectaron mutaciones en *parC*.

Conclusiones: La resistencia al ácido nalidíxico presentada por estas cepas viene definida por la presencia de mutaciones en el gen *gyrA*. Los resultados muestran la expansión clonal de una cepa Na^R derivada de una cepa sensible probablemente por presión selectiva con fluoroquinolonas.

477

FRECUENCIA DEL DETERMINANTE DE RESISTENCIA A QUINOLONAS *qnr* EN CEPAS CLÍNICAS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

J.M. Rodríguez, I. García, L. Martínez Martínez y A. Pascual
Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Sevilla.

Objetivos: Determinar la frecuencia de aparición en cepas clínicas de *E. coli* (*Ec*) y de *K. pneumoniae* (*Kp*) del locus determinante de resistencia a quinolonas *qnr*, inicialmente descrito en el plásmido pMG252 identificado en una cepa de *K. pneumoniae* (*Kp*) productora de AmpC plasmídica, aislada en Alabama (EE.UU.)

Métodos: Se evaluaron 420 cepas con distinto fenotipo de resistencia a betalactámicos y quinolonas (154 *Kp* y 266 *Ec*), aisladas en diferentes laboratorios españoles y de otros países participantes en el programa SENTRY. La detección de *qnr* se realizó por PCR usando dos parejas de cebadores que amplifican fragmentos internos de *qnr*: Micro-2/Micro-3 (298 pb); y Micro-5/Micro-6 (543 pb). Posteriormente, los fragmentos amplificados se secuenciaron.

Resultados: Se identificó *qnr* en una de las 154 cepas de *Kp* (*KpN5*), aislada en Delaware, EE.UU. *KpN5* presenta un patrón fenotípico de producción de AmpC plasmídica y contiene un plásmido que transfiere resistencia a beta-lactámicos y a quinolonas. En ninguna de las cepas de *E. coli* se encontró *qnr*. Las secuencias de los fragmentos amplificados con ambos pares de cebadores en *KpN5* fueron idénticas a las de los fragmentos amplificados en el plásmido pMG252.

Conclusiones: La frecuencia de aparición de locus *qnr* es actualmente muy baja, ya que sólo se ha identificado en 1 de las 420 cepas analizadas. Deben realizarse nuevos estudios para vigilar la aparición de nuevas cepas que contengan este determinante de resistencia, prestando particular atención a los aislamientos de *K. pneumoniae* productores de AmpC plasmídica.

478

GENOTIPADO, CARACTERIZACIÓN ANTIBIÓTICA Y DETECCIÓN DE INTEGRONES DE CLASE 1 EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

I. Pujana*, M.J. Canduela*, F. López-Otsoa*, G. Martín**, L. Gallego*

*Universidad del País Vasco, **Hospital de Santa Marina.

Se analizaron 132 aislamientos de *Pseudomonas aeruginosa*, procedentes de 45 pacientes bronquiectásicos crónicos, recogidas entre 1998 y 1999 en el Hospital de Santa Marina (Bilbao). El objetivo del estudio fue el análisis de la susceptibilidad antibiótica, la relación epidemiológica entre aislamientos y la detección y caracterización de integrones de clase 1. La concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a los antibióticos testados (Cefotaxima, Amikacina, Gentamicina, Imipenem, Meropenem, Ticarcilina, Ceftazidima, Cefepime, Aztreonam y Ciprofloxacino) fue realizada siguiendo las normas de la NCCLS. Las técnicas empleadas para la caracterización genética fueron AP-PCR y ERIC-PCR. La relación epidemiológica entre aislamientos se determinó mediante la utilización del software informático Molecular Analyst/Macintosh Fingerprinting. La detección de integrones de clase 1 se realizó utilizando los iniciadores 3'CS y 5'CS, y posterior digestión con *HinfI* para su caracterización.

La determinación de las CMIs indicaba que los aislamientos mostraban resistencia principalmente a cefotaxima, ciprofloxacino y aztreonam. Entre los agentes betalactámicos: ticarcilina, ceftazidima y meropenem fueron los más activos. Prácticamente la mitad de los aislamientos eran resistentes a imipenem. Los perfiles de amplificación obtenidos con cada

secuencia demostraron, la existencia de 45 agrupaciones clonales claramente diferenciadas. Se detectaron cuatro estructuras distintas de Integrones de clase 1 (1700, 1400, 800 y 600 pb), que aparecían en el 20% de los aislamientos estudiados. La población de *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes bronquiectásicos es genéticamente diversa siendo además el porcentaje de resistencias muy alto. Es destacable la presencia de integrones de clase 1, que pudieran explicar este índice de resistencia.

479

SEROTIPOS Y SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS DE *SALMONELLA* sp EN LA PROVINCIA DE GRANADA (AÑO 2001)

M.F. Bautista, A. Martínez-Brocal, M.A. Usera, M.C. Fernández, E. Manrique, R. Yeste, M.F. Escabias y M. de la Rosa
Servicio de Microbiología. H.U. Virgen Nieves. Granada.

Objetivos: Conocer los serotipos predominantes en el área norte de Granada, así como la susceptibilidad a antimicrobianos de cepas de *Salmonella* sp aisladas de coprocultivos durante el año 2001.

Material y métodos: Se estudiaron un total de 78 cepas. Para la identificación y la determinación de susceptibilidades a amoxicilina (AMX), amoxicilina-clavulánico (AMC), ácido nalidíxico (NAL), ciprofloxacino (CIPRO), gentamicina (GM), se utilizó el sistema wider I. El serogrupo se determinó por antisueros polivalentes y monoespecíficos (Murex Diagnostics); todas las cepas se enviaron al Centro Nacional de Microbiología Instituto de Salud Carlos III para su serotipado.

Resultados: Dos especies fueron las más aisladas, *S. enteritidis* 61,5% con predominio del serotipo 9,12: gm;- y *S. typhimurium* 25,6%, con predominio de dos serotipos, el 4,5,12:i:1,2 y el 4,12:i:1,2 otras especies se aislaron con menor frecuencia 12,8%. Todos los aislados fueron sensibles a CIPRO con CMI: $\leq 0,12$ $\mu\text{g/ml}$ (66,6%) -1 $\mu\text{g/ml}$ (33,3%). Las resistencias para el resto de antimicrobianos fueron las siguientes:

S. enteritidis (N = 48). 31,2% para AMX; 4,1% para AMC; 58,3% para NAL; 4,1% para TSX y 2% para GM.
S. typhimurium (N = 20). 75% para AMX; 25% para AMC; 15% para NAL; 4,1% para TSX y 2% para GM.

Conclusiones: Los serotipos aislados con más frecuencia en el área norte de Granada fueron *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium*. Destacan las resistencias a AMX en *S. typhimurium*, y a NAL en *S. enteritidis*.

480

ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DE LA SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *SALMONELLA* spp AISLADA EN HECES (1996-2000)

A. Sánchez*, L. Navarro, I. Gascón, MA. Arroyo, A. Gimeno, MJ Moll, MC. Blesa, M. Andreu y J. Plazas
H.G.U. Alicante.

Objetivo: Determinar la evolución de la sensibilidad antibiótica de las cepas de *Salmonella* spp. aisladas en nuestro Hospital durante el período 1996-2000, frente a los antimicrobianos más frecuentemente utilizados en el tratamiento de las infecciones por *Salmonella* spp.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de los aislados de *Salmonella* spp. en muestras de heces remitidas a nuestro laboratorio durante cinco años. Las cepas fueron identificadas por el sistema VITEK y se evaluaron sus sensibilidades atendiendo a los criterios del NCCLS. Los antimicrobianos estudiados fueron: ampicilina, amoxicilina-clavulánico, ác. nalidíxico, ciprofloxacino, cotrimoxazol, ceftriaxona y cloranfenicol.

Resultados: Se han estudiado un total de 508 cepas de *Salmonella* spp. No se han encontrado diferencias significativas

en cuanto a los porcentajes de resistencia a los distintos antimicrobianos en el período estudiado, con la excepción de ác. nalidíxico que presenta un incremento significativo de las resistencias en este tiempo.

Conclusiones: Hay un incremento de las resistencias del ác. nalidíxico en los últimos 5 años, siendo la sensibilidad en el año 2000 del 49,6%, frente a la del año 1996 que fue del 95,9%. Teniendo en cuenta el elevado índice de resistencia de *Salmonella* spp en nuestro medio, y conociendo que éste es un marcador pronóstico del fracaso terapéutico de las quinolonas fluoradas, es altamente recomendable no considerarlo como 1^º elección en monoterapia, o bien asociarlo a ceftriaxona hasta conocer su sensibilidad.

481

EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA DE *SALMONELLA* ENTERICA EN ATENCIÓN PRIMARIA

R. Martínez, B. Orden, R. Millán

Servicio de Microbiología. Clínica Puerta de Hierro (C.E. "Argüelles") Madrid.

Objetivo: Conocer la evolución de la resistencia de *Salmonella enterica*, aislada en coprocultivos, a los antimicrobianos de elección en caso de ser necesaria la instauración de tratamiento.

Métodos: La identificación bioquímica y sensibilidad antibiótica de las cepas se realizaron con el sistema semiautomático Pasco (Difco) y Wider (Soria Melguizo). El serogrupo se realizó por aglutinación con partículas de látex coloreadas (Wellcome). Los antimicrobianos estudiados han sido: ampicilina (AMP), cotrimoxazol (SXT), ciprofloxacino (CIP), cefotaxima (CTX) y ácido nalidíxico (NAL), como marcador de resistencia a fluoroquinolonas.

Resultados: Durante los años 1995-2000 se aislaron 1.192 cepas de *Salmonella enterica* de pacientes distintos, el 59,4% de ellas en niños. Se detectaron 4 serogrupos: 233 cepas del serogrupo B, 112 del C, 837 del D y 10 del E-G; en niños el más frecuente fue el D (63,7%), seguido del B (28,4%), en adultos lo fue el serogrupo D (79,8%) y después el C (12,8%). La resistencia a SXT ha descendido de 10,1% en 1995 a 4,5% en 2000 ($p < 0,001$); mientras que la resistencia a AMP se ha mantenido estable; ambas son más frecuentes en niños que en adultos, y más habituales en el serogrupo B. La resistencia a NAL se ha incrementado de 5,9% en 1995 a 36,1% en 2000 ($p < 0,001$), siendo más habitual en los serogrupos C y D. Aunque no se ha observado resistencia a CIP, encontramos un 31,6% de las cepas aisladas en 2000 con una CMI $> 0,12$ y $= < 1$ que aunque para el NCCLS son sensibles, no lo son según los criterios de MENSURA. No se han detectado cepas resistentes a CTX.

Conclusiones: En nuestra área sanitaria, la resistencia a AMP y NAL es alta, mientras que SXT presenta buena actividad "in vitro", por lo que sería el tratamiento indicado en caso de ser necesario y hasta conocer la sensibilidad de la cepa. La resistencia a ácido nalidíxico puede llevar al fracaso del tratamiento con CIP, como ya se ha registrado por distintos autores.

482

PREVALENCIA DE SEROTIPOS NO TÍPICOS DE *SALMONELLA* Y FRECUENCIA DE MULTIRRESISTENCIA EN LA PROVINCIA DE SALAMANCA

N. Delgado Ronda*, M. Trigo Daporta*, M.I. García García**, R. Ibáñez Pérez***, R. Serrano Heranz***, S. Muñoz Criado* y J.L. Muñoz Bellido*

*Departamento de Microbiología, Hospital Universitario de Salamanca. **Hospital Virgen de la Concha, Zamora. ***Hospital N^º S^º de Sonsoles, Avila.

Objetivos: El uso difundido de antimicrobianos en medicina, veterinaria y nutrición animal ha contribuido de forma

importante al aumento de la resistencia en algunos patógenos de origen animal. Uno de los grupos en que esta evolución es más evidente es el de las salmonellas no tíficas. Así el fagotipo DT 104 de *Salmonella typhimurium*, resistente de forma habitual a antimicrobianos pertenecientes a diversos grupos (penicilinas, cloranfenicol, tetraciclinas, aminoglicósidos, sulfonamidas) se aísla con frecuencia creciente en humanos, y la resistencia a antimicrobianos en *S. enteritidis* tiende asimismo a incrementarse. El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de resistencia a antimicrobianos en *S. enteritidis* y *S. typhimurium*.

Material y métodos: Se ha estudiado la prevalencia de las diferentes serovariedades de *Salmonella* spp en la provincia de Salamanca, así como los perfiles de sensibilidad a antimicrobianos, mediante el método de microdilución en medio líquido, a lo largo de 18 meses (junio 2000 a noviembre 2001).

Resultados: Desde el punto de vista de la resistencia, *S. enteritidis*, se muestra significativamente más sensible a antimicrobianos que *S. typhimurium*. Destaca la resistencia del 60% al ácido nalidixico, seguida del 10,8% a ampicilina. La resistencia a tetraciclinas y cloranfenicol se mantiene en el 6,7%. Las cepas de *S. typhimurium* son más resistentes. Muestran un 70-80% de resistencia a tetraciclinas, cloranfenicol y ampicilina. La resistencia al ácido nalidixico es significativamente menor que en el caso de *S. enteritidis* con un 9,25%, mientras que la resistencia a quinolonas fluoradas se sitúa en todos los casos por debajo del 9%. La resistencia a SXT es sin embargo mayor que en los otros dos grupos con un 18,51%.

483

RESISTENCIA A CLARITROMICINA EN *HELICOBACTER PYLORI* COMPARACIÓN DE MÉTODOS FENOTÍPICOS Y GENOTÍPICOS

T. Alarcón, N. Prieto, D. Domingo, M. Serrano y M. López-Brea
Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid.

Se han utilizado diferentes métodos fenotípicos y genotípicos para determinar la resistencia a macrólidos en *H. pylori*. La NCCLS recomienda el método de dilución en agar considerando una cepa sensible si CMI \leq 0,25 mg/L, intermedio si CMI = 0,5 mg/L y resistente si CMI \geq 1 mg/L. Se han utilizado métodos genotípicos que detectan las mutaciones implicadas en la resistencia (cambio de A por G o C en la posición 2142 del gen ARNr 23S o cambio de A por G en la posición 2143 del mismo gen).

Objetivo: Determinar la resistencia a claritromicina (CLA) mediante un método genotípico en 80 aislamientos clínicos de *H. pylori*, comparando los resultados con la dilución en agar como método de referencia.

Métodos: Se obtuvieron 80 aislamientos clínicos de *H. pylori* y se determinó la sensibilidad a CLA con el método de dilución en agar recomendado por la NCCLS, con ligeras modificaciones. Se obtuvo el ADN cromosómico mediante el método del CTAB. Se detectó la mutación A2142G y A2143G mediante un método de PCR-RFLP con los enzimas *BsaI* y *MboII*. Para detectar la mutación A2142C se utilizó una PCR 3' mismatched.

Resultados: No se detectó mutación en las cepas con CMI \leq 0,5 mg/l. De las 5 cepas con CMI = 1 mg/l, 3 presentaron mutación y 2 genotipo salvaje. De las 8 cepas con CMI = 2 mg/l, 5 tenían mutación y 3 genotipo salvaje. De las 6 cepas con CMI = 4 mg/l, 5 mostraron mutación y 1 genotipo salvaje. Las 38 cepas con CMI \geq 8 mg/l presentaban mutación. Se encontró un buen acuerdo en 74 de las 80 cepas probadas (92,5%) y se observaron errores muy graves en 6 de las 80 (7,5%) (no mutación por el método genotípico y resistente por el método de dilución en agar).

Conclusión: Se observó un buen acuerdo entre los dos métodos probados (92,5%). La detección de mutación es un método rápido y seguro, sin embargo, un resultado negativo no excluye la resistencia de la cepa.

484

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS DE *HELICOBACTER PYLORI* EN SEVILLA

A.I. Suárez, R. Romero, M. Rojas, J.M. Herrerías y E.J. Perea
Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla.

Objetivos: Conocer la prevalencia de la resistencia de *H. pylori* a claritromicina, metronidazol, ciprofloxacino, tetraciclina y amoxicilina en nuestro medio.

Métodos: Se estudiaron 181 muestras de mucosa gástrica obtenidas en la Unidad de Endoscopia del H.U. Virgen Macarena de Sevilla, desde marzo de 1998 hasta septiembre de 2001. Las muestras se procesaron en menos de 30 minutos, realizándose tinción de Gram (contracolorante: fuchina) y cultivo en agar chocolate y medio selectivo Dent. Las placas fueron incubadas en microaerofilia a 35°C durante siete días. Las bacterias fueron identificadas mediante tinción de Gram, producción de oxidasa, catalasa y ureasa. La determinación de la concentración mínima inhibitoria se realizó mediante E-test (AB Biodisk, Suecia). Como inóculo se empleó una suspensión de bacterias crecidas durante tres días en agar chocolate (2 de McFarland). El medio empleado en el antibiograma fue Mueller Hinton suplementado con 5% de sangre de carnero. Las placas se incubaron en microaerofilia a 35 °C durante tres días. Los puntos de corte (mg/l) empleados fueron: claritromicina \geq 1, metronidazol $>$ 8, ciprofloxacino $>$ 4, tetraciclina $>$ 2 y amoxicilina $>$ 4.

Resultados: Los porcentajes de resistencia en las cepas estudiadas fueron 41,9% para metronidazol, 28,2% para claritromicina, 8,3% para ciprofloxacino y 0,5% para tetraciclina. Todas las cepas fueron sensibles a amoxicilina. En el 19,8% de los casos se observaron resistencias dobles o triples a los antimicrobianos, siendo la combinación más frecuente metronidazol-claritromicina (13,8%). El 2,7% de las cepas presentaron resistencia triple a metronidazol-claritromicina y tetraciclina o ciprofloxacino.

Conclusiones: Dada la alta resistencia de *H. pylori* a metronidazol y en menor grado a claritromicina en nuestro medio, sería aconsejable realizar en todos los pacientes con sospecha de infección por este microorganismo la determinación de la sensibilidad a antimicrobianos.

485

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *HELICOBACTER PYLORI* OBTENIDOS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS

M. López-Brea, D. Domingo, M. J. Martínez, P. de la Obra y T. Alarcón

Microbiología, H.U. la Princesa, Unidad de Gastroenterología, Hospital Niño Jesús, Madrid.

Objetivo: Determinar la resistencia a metronidazol (MTZ), amoxicilina (AMX) y claritromicina (CLA) de aislamientos de *H. pylori* de pacientes pediátricos.

Métodos: Entre 1998 y 2000, se cultivaron 96 cepas de *H. pylori* a partir de muestras de biopsia gástrica de pacientes sintomáticos. Se agruparon en 3 grupos diferentes de acuerdo con la edad del paciente:

Grupo I: 22 pacientes de 4-8 años, edad media 6,1 \pm 1,3, 11 niños, 11 niñas.

Grupo II: 53 pacientes de 9-13 años, edad media 11,1 \pm 1,3, 32 niños, 21 niñas.

Grupo III: 21 pacientes de 14-18 años, edad media 15,1 \pm 1,5, 10 niños, 11 niñas.

Se determinó la CMI mediante dilución en agar (Mueller Hinton agar con 7% de sangre de caballo), con un inóculo del 2 de McFarland aplicado con un replicador de Steer. Las placas se incubaron de 3 a 5 días a 37 °C en 10% de CO₂. Una CMI \geq 1 mg/L se consideró resistente y CMI = 0,5 mg/L intermedia a CLA. Para MTZ se consideró resistente si CMI \geq

8 mg/L y para AMX si CMI \geq 2 mg/L. Se calculó el intervalo de confianza (IC95) y se comparó el porcentaje de resistencia en cada grupo mediante una Chi cuadrado.

Resultados: La tasa global de resistencia a CLA en pacientes pediátricos fue de 29,1% y a MTZ de 23,9%. No se detectó resistencia a AMX. El porcentaje de resistencia a CLA por grupos de edad fue el siguiente: Grupo I: 45,4% (IC95: 24,3-67,7), grupo II: 30,2% (IC95: 18,3-44,3) y grupo III: 9,5% (IC95: 1,2-30,3) ($p < 0,05$). El porcentaje de resistencia a MTZ por grupos de edad fue el siguiente: grupo I: 18,2% (IC95: 5,2-40,2), grupo II: 20,7% (IC95: 10,8-34,1) y grupo III: 38,1% (IC95: 18,1-61,5) (p no significativa).

Conclusión: La resistencia a CLA fue más alta en niños menores de 8 años mientras que la resistencia a MTZ fue más alta en niños mayores de 14 años. Los niños menores de 8 años han podido estar más expuestos a los nuevos macrólidos, probablemente para procesos respiratorios, teniendo en cuenta que fueron comercializados en España al comienzo de los 90s.

486

EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA DE *CAMPYLOBACTER* SPP A SEIS ANTIMICROBIANOS DURANTE 6 AÑOS

O. López, C. Rodríguez-Avial, I. Rodríguez-Avial y J.J. Picazo
S. de Microbiología Clínica. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Objetivo: Las infecciones intestinales por *Campylobacter* spp son autolimitadas, pero el tratamiento con antimicrobianos puede ser necesario en infecciones prolongadas, especialmente en niños y pacientes inmunodeprimidos. El objetivo de este estudio fue comparar la evolución de la resistencia de *Campylobacter* spp, aislados de coprocultivos, entre los períodos 1996-1998 y 1999-2001 a varios antimicrobianos.

Material y métodos: En el 1^{er} período se aislaron 124 cepas de *Campylobacter* spp (103 *C. jejuni* y 21 *C. coli*) y en el 2^o 420 cepas (398 *C. jejuni* y 22 *C. coli*). La identificación fue por API Campy (BioMerieux). Se estudió la sensibilidad por el método de difusión a: amoxicilina-clavulánico (30 μ g), eritromicina (15 μ g), gentamicina (10 μ g), cefotaxima (30 μ g), ciprofloxacino (5 μ g), y tetraciclina (30 μ g). Se utilizaron placas de agar con 5% de sangre de carnero y se incubaron en microaerofilia durante 24 horas.

Resultados: Para *C. jejuni* solo se aisló una cepa resistente (0,5%) a amoxicilina-clavulánico en el año 2001. La resistencia a eritromicina varió de 0% a 4,9%. Para cefotaxima de 1,9% a 7,1%, gentamicina de 0,5% a 2,9%. Para ciprofloxacino de 70% a 83% y de 58% a 74% para tetraciclina. Para *C. coli* la resistencia a eritromicina disminuyó de 46,6% a 11,1%, aumentando la resistencia a ciprofloxacino de 71,4% a 88,8%.

Conclusiones: La resistencia de *Campylobacter* spp para ciprofloxacino varía según los años, pero no es inferior al 70%. A tetraciclina la resistencia aumenta de 58% a 74%. Amoxicilina-clavulánico y eritromicina siguen siendo los antimicrobianos con mayor sensibilidad, pudiendo ser una alternativa gentamicina y cefotaxima cuando los anteriores no se puedan utilizar. Las cepas de *C. coli* son más resistentes a amoxicilina-clavulánico y eritromicina que las cepas de *C. jejuni*.

487

CARACTERIZACIÓN DE LAS MUTACIONES DEL GEN *rpoB* QUE DETERMINAN RESISTENCIA A RIFAMPICINA EN CEPAS DE *H. INFLUENZAE*

S. Cruchaga*, M. Pérez-Vázquez, F. Roman y J. Campos
Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

Objetivos: Describir el mecanismo de resistencia primario a Rifampicina (Rif) en cepas de *H. influenzae* con distintos niveles de resistencia a Rif.

Métodos: Se procesaron 16 aislamientos clínicos de *H. influenzae* con CMIs frente a Rif que oscilaban entre $\leq 0,5$ y ≥ 32 μ g/ml y dos cepas de referencia sensibles. Se secuenció, me-

dianamente amplificación por PCR, una pequeña región conservada en el centro del gen *rpoB*, que codifica el sitio de unión de la Rif a la subunidad β de la ARN polimerasa. Los primers utilizados se diseñaron en base a la secuencia conocida de *Haemophilus influenzae* Rd, delimitando el área del gen *rpoB* de *E. coli* donde se han localizado la mayoría de las mutaciones responsables de resistencia a Rif (clusters I y II). Se determinó mediante PFGE la relación clonal entre las cepas estudiadas.

Resultados: Se obtuvieron dos fragmentos de 309 y 413 pares de bases correspondientes a los clusters I y II de *E. coli*, respectivamente, cuya traducción a proteínas demostró 8 mutaciones en 10 de las 11 cepas resistentes. Todas las cepas con CMIs ≥ 32 μ g/ml presentaron mutaciones en el cluster I, la más frecuente en la posición 516 fue la sustitución de Asp por Val detectada en 4 cepas, una de ellas con una segunda mutación en Asn518 por Asp. En la misma posición 516, el Asp estaba sustituido por Asn, en una cepa con una CMI = 32 μ g/ml y por Ala en otra cepa con bajo nivel de resistencia (CMI: 3 μ g/ml). Otras mutaciones Gln513-Leu, His526-Leu, Leu534-Ser, se detectaron también en tres cepas con CMIs ≥ 32 μ g/ml. Sólo se identificó una mutación en el clusterII: Ile572-Asn, en una cepa con bajo nivel de resistencia (CMI: 2 μ g/ml). Las cepas sensibles a Rif no presentaron mutaciones. No se demostró relación clonal entre las cepas estudiadas.

Conclusiones: El mecanismo más probable de resistencia a Rif es el desarrollo de mutaciones puntuales en la región central del gen *rpoB*, la mayoría de ellas localizadas en el cluster I. El codón 516 parece ser importante en la aparición de resistencia a Rif en cepas de *H. influenzae*.

488

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LAS RESISTENCIAS DEL GRUPO *BACTEROIDES FRAGILIS* EN LOS AÑOS 1995 Y 2000

A.P. Castro, M.H. Ramos y J.M. Amorim

Serviço de Microbiologia, Hospital Geral de Santo António, Porto.

Introducción: Las resistencias de las bacterias anaerobias han aumentado significativamente en los últimos años, principalmente en el Grupo *Bacteroides fragilis*.

Objetivo: Evaluación de las resistencias a los antibióticos del Grupo *Bacteroides fragilis* en el año 2000 y comparación con el año 1995 (intervalo de 5 años).

Material y métodos: Estudiamos 124 estirpes del Grupo *Bacteroides fragilis* aisladas de muestras clínicas en el año 2000 y las comparamos con 208 estirpes aisladas en 1995. Para la identificación hemos utilizado los sistemas ATB32 ANA, Api20A, Anident y varios tests suplementarios. Los antibióticos ensayados fueron: amoxicilina/clavulánico, cefoxitina, cloranfenicol, clindamicina, imipenem, metronidazol, penicilina G y piperacilina. En el año 2000 hemos ensayado la combinación piperacilina/tazobactam. La susceptibilidad fue determinada por la metodología Etest® (AB Biodisk) en medio de cultivo Brucella agar suplementado. La CIM es expresada en μ g/ml. Fueron calculadas las CIM50 y CIM90, y también el porcentaje de resistencias de estas bacterias a cada uno de los antibióticos.

Resultados: El porcentaje de resistencias en los años 1995 y 2000 a cada antibiótico fue respectivamente: amoxicilina/clavulánico - 2,0%; 5,6%, cefoxitina - 14,4%; 29,8%, clindamicina - 21,3%; 38,7%, cloranfenicol - 0%; 0%, imipenem - 0%; 1,6%, metronidazol - 0%; 0%, penicilina - 84,5%; 96,7% piperacilina - 36,2%; 1,6%*.

*asociación piperacilina/tazobactam.

Conclusión: En este período de 5 años observamos un aumento substancial en las resistencias en general. Metronidazol y cloranfenicol fueron los únicos antibióticos para los cuales no detectamos cualquier resistencia. Aunque la CIM50 no haya cambiado mucho, la CIM90 ha aumentado significativamente en la mayoría de los antibióticos. Los buenos resultados obtenidos con piperacilina en 2000 se deben a su asociación con tazobactam.

489

DISTRIBUCIÓN DE INTEGRONES DE CLASE 1 ENTRE ENTEROBACTERIAS AISLADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS

M.E. Cano*, I.de Benito*, J.M. García-Lobo** y J. Agüero*,**
 Microbiología* H.U. Marqués de Valdecilla. Dpto. Biología Molecular**, Univ. de Cantabria.

Introducción: Los integrones constituyen el mecanismo principal de captura y diseminación de genes de resistencia a antibióticos entre bacterias gram negativas, siendo los integrones de clase 1 los más frecuentemente encontrados en aislamientos clínicos.

Objetivo: Estudiar la incidencia de integrones de clase 1 entre enterobacterias aisladas en nuestro laboratorio de Microbiología a partir de muestras clínicas, y caracterizar los cassettes de resistencia. Establecer, así mismo, una relación entre la presencia de dichos elementos genéticos y la susceptibilidad de las cepas a los antimicrobianos.

Material y métodos: Se analizaron 174 aislamientos de enterobacterias de diferentes especies, procedentes de distintos pacientes sin relación epidemiológica aparente. La identificación y antibiograma de los aislados se realizó mediante paneles MicroScan® (Dade Behring). Para detectar la presencia de integrones de clase 1 se empleó una PCR que amplifica una región del gen de la integrasa de clase 1, *intI1*, presente de forma constante en este tipo de integrones. Para caracterizar los genes de resistencia localizados en dichas estructuras, se amplificó la región central variable y se estimó el peso molecular tras electroforesis en geles de agarosa.

Resultados: De las 174 cepas de enterobacterias analizadas, 48 fueron portadoras de integrones (27,5%), estableciéndose distintos patrones según el tamaño de la región central amplificada.

Conclusiones: Al igual que lo experimentado en diferentes estudios, nuestras cepas clínicas han demostrado poseer integrones de clase 1, lo que pone de manifiesto, una vez más, su amplio nivel de distribución entre las enterobacterias. Los diferentes tamaños encontrados indican, además, una diferencia en el número y tipo de cassettes insertados. Las cepas portadoras de integrones se asociaron con mayor frecuencia a porcentajes más bajos de sensibilidad a antibióticos, especialmente a aminoglicósidos, quinolonas y cotrimoxazol.

Método: Retrospectivamente se identifican 70 ITU (26%); 136 PNA (51%); 39 Bacteriemias/Sepsis urinarias (B-S 14%); y 24 Prostatitis (Ps 9%).

Resultados: Por sexos no hay diferencias en ITUs y B-S; en PNA es 4:1 para mujeres, salvo en > 65 años (90% varones). La edad media fue más alta en B-S: 77 años (85% > 65 a) y más baja en PNA: 43 años (15% > 65 a). La rentabilidad de los estudios microbiológicos fue adecuada, con valores similares a los de otras series. La sensibilidad de *E. Coli* en nuestra serie fue: resistencia a Ampicilina 68%, Cotrimoxazol 28%, Cefalosporinas de 1ª generación 18%, Pipemídico 13%. Más del 95% de las cepas aisladas fueron sensibles a Amoxi-Clavulánico y Ciprofloxacino (R 4,6%), Cefuroxima (R 1,3%), y a Ab parenterales: Gentamicina (R 2%) y Ceftriaxona (R 0%). La estancia media fue similar en todos los grupos (3,1-3,6 días), siendo ligeramente superior en las B-S (4,08 días), con un índice de fracasos (definidos como estancia > 5 días) del 17% en ITUs, 5% en PNA, 26% en B-S, y 8% en Ps. La edad media de los fracasos en B-S fue de 81 años).

Conclusiones: Las infecciones urinarias son una causa muy frecuente de hospitalización y pueden manejarse correctamente bajo la modalidad de corta estancia (UCE), con un índice de fracasos inferior al 10% en PNA y Ps, y del 17% en ITUs y 26% en B-S (estos últimos eran todos mayores de 80 años). La PNA es una IAU altamente frecuente en mujeres jóvenes, y las ITUs y B-S en pacientes mayores de ambos sexos.

El *E. Coli* es responsable de > del 90% de las IAU, siendo el agente aislado en el 98% de las PNA, 93% de las B-S, 85% de las Ps y 76% de las ITUs; con una alta tasa de Resistencias a Ampic, Cotri, Pipemídico y Cefalosporinas de 1ª generación, y muy buena sensibilidad en nuestro medio a Amoxi-Clavulánico, Cefuroxima y Ciprofloxacino, que han de ser los antibióticos de elección en todos los casos, permitiendo terapia secuencial parenteral-oral.

491

CANDIDA EN ORINA: ANÁLISIS DE 2 AÑOS

C. García-Riestra, E. Varela, M.V. Martino, P. Ordóñez, C. Otero, M. Treviño y A. Aguilera

Servicio de Microbiología. C.H.U.S. Santiago de Compostela. La Coruña.

La infección urinaria (ITU) continua siendo la infección nosocomial más frecuente. En los últimos años, la etiología de la ITU ha sufrido notables cambios, destacando la emergencia del género *Candida*, especialmente en las unidades de cuidados críticos.

Hemos realizado un estudio con el fin de conocer la incidencia de las diferentes especies de *Candida* en orina, durante los dos últimos años, relacionando los aislamientos en el laboratorio con los procesos por este microorganismo en pacientes hospitalizados, pacientes ambulatorios, pacientes urgentes y pacientes ingresados en unidades de críticos.

La identificación, al nivel de especie, fue realizada mediante el sistema Vitek2.

Resultados: Durante el período de estudio, hemos aislado un total de 667 *Candida* spp. en orina que correspondieron con 464 ITU. La distribución por procedencia de los pacientes, en el 2000, fue: UCIs (33,3%), ingresados -especialmente oncología y neurocirugía- (53,67%), de urgencias (2,16%) y ambulatorios (13,85%). En el año 2001, se observó un incremento en las unidades de críticos (40,77%), un descenso en los hospitalizados (49,7%), y no se observaron cambios en las otras procedencias.

En relación con las especies de *Candida*, hemos encontrado hasta 11 especies diferentes, destacando *C. albicans* (52,38% y 60,77%), seguido de *C. glabrata* (6,49% y 5,07%), *C. parapsilopsis* (5,19% y 6,03%), *C. tropicalis* (4,32% y 5,60%) y *C. krusei* (3,46% y 3,01%), respectivamente para los años 2000 y 2001.

Sesión 23

Infecciones genitourinarias y gastrointestinales

490

INFECCIONES DEL APARATO URINARIO (IAU) EN UNA UNIDAD DE CORTA ESTANCIA (UCE) MÉDICA (ANÁLISIS DE 269 CASOS)

S. García, J. Martínez, E. Martín, G. Seseña, S. Plaza, P. Rondón, J. Jusdado y J. Marco

Medicina Interna-Microbiología. Hospital Severo Ochoa. Leganés. Madrid.

Objetivos: En la UCE ingresan patologías médicas con estancia previsible inferior a 5 días. Hemos analizado todos las IAU ingresados en nuestra unidad durante los últimos 20 meses (n = 269: 99 H (37%), 170 M (63%); 12% de los ingresos en UCE).

Conclusiones: Hemos observado una disminución en las orinas de procedencia hospitalaria, manteniéndose invariables las de servicios de cuidados críticos. Estos servicios han sido en los que hemos encontrado una mayor variedad de especies del género *Candida*. Globalmente, se ha observado un incremento en los procesos por *C. lusitanae* y por *C. albicans*, y similares porcentajes en las demás especies.

492

APLICABILIDAD PRÁCTICA DE LOS SISTEMAS AUTOMATIZADOS CORAL Y UROQUICK EN LA DETECCIÓN DE BACTERIURIA

J. López-Barba, I. Solino, I. Jesús y M. Rodríguez-Iglesias
Laboratorio de Microbiología. Hosp. Univ. Puerto Real. Cádiz.

La introducción de sistemas automatizados de screening para la detección de bacterias en orina se fundamenta en que estas muestras suelen ser las más frecuentes en la rutina diaria y la rentabilidad diagnóstica de recuentos significativos suele ser relativamente baja. En este trabajo se ha evaluado la utilidad de dos sistemas automatizados en comparación con la metodología convencional de recuento en placa. Se han estudiado 636 muestras de orina que correspondían a las 30 primeras muestras recibidas cada día en el laboratorio durante el período de un mes. Las muestras fueron procesadas por dos sistemas automatizados distintos: Coral System utiliza la bioluminiscencia para detectar el consumo de ATP bacteriano obteniendo resultados en 25 minutos y Uro-Quick emplea un sistema de dispersión de luz midiendo la cinética bacteriana con una incubación de tres horas. Como método de referencia se ha utilizado el urocultivo con asa calibrada en placas de Cled incubadas a 37 °C durante 24 h. Los criterios de positividad han sido para Coral System la obtención de un valor igual o superior al 2% del calibrador, para Uro-Quick® un valor de al menos 3 x 10⁴ UFC/ml y para cultivos en Cled un recuento superior o igual a 3 x 10⁴ UFC/ml.

Las muestras positivas en medio sólido fueron 118, detectándose dos falsos positivos de Coral y 39 de Uroquick y 26 falsos negativos de Coral y 4 de Uroquick. La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN fueron respectivamente 98,3, 94,9, 81,6 y 99,5 para Coral y 66,9, 99,2, 95,1 y 92,9 para Uroquick. Las muestras falso negativas de Coral tenían recuento muy positivos (10⁷) que sugieren error de procesamiento, mientras que las falso negativas de Uroquick tenían 10⁵ UFC/ml en el 53,8% de las muestras.

El sistema Coral presenta una sensibilidad y un VPN adecuados para ser utilizados como técnica de screening, pero su mayor ventaja es descartar las muestras negativas en menos una hora desde su entrada en el laboratorio, lo que tiene especial interés en las muestras hospitalarias.

493

INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO CAUSADAS POR BACTERIAS DEL GÉNERO AEROMONAS

M. Ojeda, M.A. González, O. Afonso y C. Monzón
Servicio de Microbiología del H.U.I.G.C. y Unidad Docente de Microbiología. H.U.I.G.C., Las Palmas.

Introducción: Las especies del género *Aeromonas* son microorganismos mesófilos, anaerobios facultativos, no esporulados, catalasa y oxidasa positivos. Están ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en nichos ecológicos acuáticos (marinos y de agua dulce).

Las infecciones humanas causadas por *Aeromonas spp* son fundamentalmente gastroenteritis, infecciones de heridas y bacteriemias, pero las infecciones urinarias (ITUs) causadas por este microorganismo son excepcionales.

Material y métodos: En este trabajo se describen 8 episodios de ITUs diagnosticadas en el HUIGC en un período de 5 años (1996-2001). Durante este tiempo, se realizaron en nuestro laboratorio un total de 28.972 urocultivos. De estos, resultaron positivos 7.552 (25%). Para la identificación de los microorganismos y su antibiograma se utilizó el método semiautomático WIDER I®.

Resultados: 8 de ellos (0,11%) lo fueron a diferentes especies de *Aeromonas* (6 *A. hydrophila*, 1 *A. caviae* y 1 *A. veronii bt sobria*). De los 8 pacientes, 6 presentaban patología de base en el tracto urinario (2 trasplantados renales, 1 hiperplasia prostática, 2 nefropatías diabéticas y un fracaso renal agudo de tipo obstructivo), uno presentaba de base una Diabetes Mellitus complicada con un infarto agudo de miocardio y él último ingresó por una fractura peritrocantérea de cadera haciendo posteriormente una ITU por *E. coli* que, tras el tratamiento adecuado se complicó con otra por *Aeromonas*. Todas las infecciones urinarias objeto este estudio se resolvieron tras la instauración del correspondiente tratamiento antibiótico. Hemos de señalar que uno de los pacientes con posterioridad a la infección por *Aeromonas* tuvo un rechazo del injerto renal, que terminó con la colocación de un nuevo injerto.

Conclusiones: En nuestro hospital, debemos considerar las nuevas localizaciones de infección para este tipo de microorganismos, teniendo en cuenta, la ubicación marítima de nuestra área de incidencia.

494

INFECCIONES GENITOURINARIAS POR HAEMOPHILUS INFLUENZAE

J.L. Díaz de Tuesta, A. Valiente, M.J. Echeverría y J.M. García-Arenzana

Servicio de Microbiología, Hospital Donostia. San Sebastián.

Objetivos: Conocer las características epidemiológicas y microbiológicas de las cepas de *H. influenzae* aisladas del tracto genitourinario.

Métodos: Estudio retrospectivo de los aislamientos de *H. influenzae* obtenidos entre enero de 1985 y octubre de 2001 procedentes de muestras genitourinarias.

Resultados: Se obtuvieron 124 aislamientos de 91 frotis vaginales; 15 orinas; 7 uretrales; 3 cérvix, 2 gl. Bartholino; 2 loquios; 1 DIU; 1 saco de Douglas, y 2 de endometrio. El 92% (114) de los aislamientos procedían de mujeres; y el 56,4% (70/124) de niñas < 14 años. La edad media de los varones fue 29 años; la de las niñas 4 años y la de las mujeres adultas 34 años. En las niñas, el 87,1% (61) de los aislamientos procedían de frotis vaginales y el 12,9% (9) de orina. En las mujeres adultas, el 68,2% (30) de exudados vaginales; el 6,8% (3) de orina; y el 25% (11) de otras localizaciones (loquios, cérvix, DIU...). No se observó relación entre el número de aislamientos y el período estacional (junio: 18 casos; febrero y marzo: 14; abril: 13; julio y noviembre: 12; mayo: 11; enero: 10; agosto: 6; septiembre y octubre: 5, y diciembre: 4 casos). Se serotipificó el 58,9% (73) de las cepas, siendo el 97,3% (71) HiNC; 1 Hib y 1 HiCNB. Se biotipificó el 53,2% (66) de las cepas, siendo los biotipos más frecuentes el biotipo 2 (32/66; 48,5%) y el biotipo 3 (17/66; 25,8%). El 29,8% (37/124) de las cepas fueron AmpR; el 44,2% (53/120) SxTR; el 5% (6/121) ClorR, y el 6,8% (8/118) TeR.

Conclusiones: 1) Las infecciones genitourinarias por *H. influenzae* son más frecuentes en las mujeres, sobre todo en niñas, causando con frecuencia vaginitis. 2) Las infecciones genitourinarias por *H. influenzae* no se relacionan con el período estacional. 3) La mayoría de las cepas son cepas no capsuladas. 4) Los biotipos más frecuentes son el biotipo 2 y el 3. 5) La resistencia antibiótica frente a amoxicilina y cotrimoxazol es elevada, por lo que no deberían emplearse en el tratamiento empírico de las infecciones genitourinarias por *H. influenzae*.

495

AISLAMIENTO DE *ENTEROCOCCUS FAECALIS* CON FENOTIPO MUCOSO EN INFECCIONES DEL TRACTO URINARIO

C. Marne, A. Hurtado, S. Escobar y A.I. López

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

Objetivo: Evaluar prospectivamente durante un año la frecuencia de aislamientos de *Enterococcus* spp. capsulados con fenotipo mucoso, dado el reciente aumento de este tipo inusual de cepas.

Resultados: En el último año (nov 00/oct 01) se procesaron 29.655 urocultivos, de los que 7.324 (24,7%) resultaron positivos. *Enterococcus* spp se aisló en 684 (9,3%) muestras. En tres casos se aislaron en agar sangre y agar cled cepas de crecimiento lento, con colonias pequeñas a las 24 h de incubación. Por reincubación a las 48 h el aspecto altamente mucoso de colonias confluentes no hemolíticas, orientaba al procesamiento como posibles bacilos gramnegativos. La tinción de Gram mostró cocos grampositivos en pareja con un halo correspondiente a la cápsula. En el sedimento urinario se observó en los tres casos leucocitos y cocos grampositivos en cadena. La identificación correspondió a *E. faecalis*, sin reacciones atípicas. Las cepas eran sensibles a ampicilina, amoxicilina-clavulánico, norfloxacin, nitrofurantoína, cotrimoxazol y vancomicina y presentaban resultados variables a fosfomicina y gentamicina. El aspecto mucoso de las colonias se mantuvo en sucesivas resiembras. Los pacientes de 57, 72 y 92 años, habían presentado infecciones urinarias de repetición en los meses previos al aislamiento, aunque en ningún caso se debió a *E. faecalis*. La respuesta al tratamiento fue favorable, con cultivos de control postratamiento negativos. El paciente de menor edad era el único con factores de riesgo relevantes, con cistectomía por neoplasia de vejiga.

Conclusiones: La facilidad de confusión inicial con colonias de bacilos gramnegativos puede inducir a error, retrasando el resultado. Los resultados del antibiograma no concordantes con lo esperado en una cepa mucosa, deben hacer sospechar el aislamiento de *E. faecalis* capsulado. La tinción sistemática de Gram en las cepas de crecimiento lento facilita la detección precoz de este tipo de cepas.

496

COMPARACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DE *E. COLI* DE UROCULTIVOS HOSPITALARIOS Y EXTRAHOSPITALARIOS DE 1996 A 2001

S. Junquera, E. Loza, M. Martínez Ferrer y F. Baquero

Servicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Objetivo: Comparar la sensibilidad de *E. coli* de urocultivos de procedencia hospitalaria y de Centros de Salud en un período de 6 años.

Material y métodos: Se evaluaron 13.263 aislamientos de *E. coli* (10.913 hospitalarios y 2.350 de Centros de Salud (CS)). La CMI (microdilución) se estudió con los sistemas semiautomáticos PASCO y WIDER. La comparación de la sensibilidad se realizó utilizando tablas de contingencia y la prueba χ^2 .

Resultados: En la tabla se detalla el % de sensibilidad según la procedencia de los aislamientos.

Año	1996	1997	1998	1999	2000	2001
CS/hospital	192/1842**	389/1661	423/1540	317/1433	414/1557	586/1080
Amp./amox.	49,0/41,9*	46,5/39,0*	46,9/41,0*	42,9/39,6	37,9/37,0	41,6/38,8
Amox./clav.	93,1/90,9	93,6/92,5	96,9/95,7	98,5/95,8*	98,7/96,8*	98,0/96,3*
Ticarcilina	49,0/42,3*	46,6/38,9*	47,2/41,5*	42,9/38,2	38,2/37,3	42,0/40,1
Cefazolina	98,4/94,7*	97,2/95,5	98,1/96,2*	97,5/95,5	96,6/95,1	97,1/95,2
Cefuroxima	99,5/96,3*	96,4/95,4	98,6/96,0*	98,7/96,9	97,6/96,1	97,3/96,4
Cefotaxima	100/99,9	99,7/99,0	98,8/98,5	99,7/98,8	98,8/98,4	99,0/98,2

Ceftazidima	100/99,6	98,7/98,4	99,1/97,9	99,7/98,0*	98,5/97,2	98,3/97,5
Gentamicina	94,8/93,4	95,4/91,3*	94,1/92,3	95,9/93,1*	92,8/93,5	92,2/93,4
Amikacina	100/98,7	99,7/99,9	99,5/99,9	100/99,9	99,8/99,8	99,8/99,8
Ac. nalidixico	72,4/71,8	76,4/68,6*	70,1/71,5	72,9/69,8	72,7/68,6	67,1/65,9
Norfloxacin	85,0/81,2	83,3/76,7*	72,0/74,9	74,4/71,2	73,4/70,2	67,2/66,3
Cotrimoxazol	70,8/63,5*	71,0/66,7	73,7/69,2	68,8/64,5	68,8/65,6	66,0/66,3
Fosfomicina	97,4/99,0*	99,5/98,3	98,3/97,4	100/97,8*	98,8/97,7	97,6/98,8
Nitrofurantoína	95,8/94,5	99,7/97,2*	98,6/98,1	97,5/95,2	97,8/95,8*	97,4/97,5

**Número de aislamientos; *p < 0,05

Conclusiones: La mayor diferencia en el porcentaje de sensibilidad entre los aislamientos hospitalarios y extrahospitalarios se observa en las cefalosporinas, mientras que la menor corresponde a las quinolonas.

497

EVOLUCIÓN DEL PATRÓN DE SENSIBILIDAD DE AISLAMIENTOS DE *E. COLI* EN UROCULTIVOS DURANTE OCHO AÑOS (1994-2001)

S. Junquera, E. Loza, M. Martínez Ferrer y F. Baquero

Servicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Objetivo: Estudiar la evolución de la sensibilidad antimicrobiana de aislamientos de *E. coli* de urocultivos durante los últimos 8 años.

Material y métodos: Se evaluaron 14.319 aislamientos de *E. coli* (11.969 hospitalarios y 2.350 extrahospitalarios). La CMI (microdilución) se realizó con los sistemas semiautomáticos PASCO y WIDER.

Resultados: Los porcentajes de sensibilidad se muestran en la tabla:

Año	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001
<i>E. coli</i> (n°)	1.056	1.829	2.034	2.050	1.963	1.750	1.971	1.666
Ampi./amoxic.	42,3	42,3	42,6	40,4	42,3	40,2	37,2	39,8
Amoxi-clavul.	87,5	86,2	91,1	92,7	96,0	96,3	97,2	96,9
Ticarcilina	42,6	42,6	42,9	40,4	42,7	39,1	37,5	40,8
Cefazolina	96,4	94,6	95,1	95,8	96,6	95,9	95,4	95,9
Cefuroxima	98,3	96,5	96,6	95,6	96,5	97,2	96,4	96,7
Cefotaxima	100,0	99,6	99,9	99,1	98,6	99,0	98,5	98,5
Ceftazidima	99,6	99,0	99,6	98,5	98,2	98,3	97,5	97,8
Gentamicina	94,6	94,5	93,5	92,1	92,7	93,6	93,4	93,0
Amikacina	100,0	99,9	99,8	99,9	99,8	99,9	99,8	99,8
Ac. nalidixico	76,0	71,2	71,9	70,1	71,4	70,4	69,5	66,3
Norfloxacin	85,1	80,6	81,6	78,0	74,3	71,8	70,9	66,6
Cotrimoxazol	67,9	63,3	64,2	67,5	70,2	65,3	66,3	66,2
Fosfomicina	99,0	98,7	98,9	98,5	97,6	98,2	97,9	98,4
Nitrofurantoína	92,0	91,3	94,6	97,7	98,2	95,6	96,2	97,5

Conclusiones: Se observa una disminución de la sensibilidad a quinolonas. Las aminopenicilinas y ticarcilina disminuyen en menor medida, pero más que las cefalosporinas. Por el contrario, se aprecia una escasa variación de la sensibilidad de otros antimicrobianos a lo largo del período estudiado.

498

SENSIBILIDAD DE PATÓGENOS URINARIOS A ANTIMICROBIANOS

C. de Miguel, J.C. Alados, J.L. de Francisco, M. Chaves, A. Aller y L. Calbo

Servicio de Microbiología. Hospital del S.A.S. de Jerez. Jerez de la Frontera, Cádiz.

Objetivos: 1) Conocer la sensibilidad, de los patógenos más predominantes productores de infección urinaria, a los antimicrobianos recomendados en su tratamiento empírico. 2) Determinar la prevalencia de cepas productoras de β -lactamas de espectro ampliado (BLEA).

Métodos: Se ha realizado un estudio retrospectivo de la sensibilidad a amoxicilina/ácido clavulánico (Aug), cefuroxima

(Crm), cefotaxima (Cft), ciprofloxacina (Cp), fosfomicina (Fos) y nitrofurantoina (Fd) de las cepas de *E. coli*, *P. mirabilis* y *K. pneumoniae*, aisladas de muestras urinarias desde 1996 hasta 2001. Se ha utilizado el panel Combo orina MicroScan (Dade Behring) para identificación y sensibilidad. La confirmación de cepas BLEA, se realizó mediante E-test[®] ceftazidima, ceftazidima/ácido clavulánico.

Resultados: Los tres microorganismos -*E. coli* (n = 9.593), *P. mirabilis* (n = 1.420) y *K. pneumoniae* (n = 836)- representaban más del 95% de todos los aislamientos urinarios en el período estudiado. Fos con una sensibilidad superior al 98%, mostró un nivel de actividad semejante a Cft y superior a Aug, Crm y Cp frente a *E. coli* (la resistencia a quinolonas ha pasado de un 20% en 1996, al 28% en el 2001). Crm y Cft mostraron un nivel de actividad similar frente a *P. mirabilis* y ligeramente superior a Aug, Cp y Fos. Las cepas de *K. pneumoniae* mostraron una buena sensibilidad a los antimicrobianos objeto del estudio. Las cepas BLEA de *E. coli*, tuvieron una prevalencia de 0,5% en 1999, 0,1 en 2000 y de 0,4 en 2001. La prevalencia de BLEA de *K. pneumoniae*, fue de 1,5% en 1999, 0 en 2000 y 2,4% en 2001.

Conclusiones: 1) Fosfomicina fue el antimicrobiano más activo frente a *E. coli* y por tanto una buena elección en el tratamiento empírico de las infecciones urinarias no complicadas en nuestro medio. 2) En el período estudiado ha aumentado el número de cepas resistentes a ciprofloxacina. 3) La prevalencia de cepas BLEA de *E. coli* ha sido inferior al de *K. pneumoniae*.

499

CARACTERÍSTICAS Y CURSO HOSPITALARIO DE LOS PACIENTES INGRESADOS POR PIELONEFRITIS AGUDA

J. de la Torre, J.L. Prada, A. del Arco, M.P. Molina, M. Pérez y N. Montiel

Unidad de Medicina Interna. Hospital Costa del Sol. Marbella, Málaga.

Objetivo: Describir las características clínicas y evolutivas de una serie de pielonefritis infecciosas (PI) ingresadas en un hospital general.

Material y método: Estudio retrospectivo descriptivo de los casos de PI ingresados en el Hospital Costa del Sol desde el 1/1 al 31/12 de 2000. Se estudiaron las características clínico-epidemiológicas, analíticas y evolutivas.

Resultados: Ingresaron 73 pacientes con PI, siendo el 71% mujeres y la edad media de 51 ± 20. En los antecedentes existía ITU previa 22 casos (30%), instrumentación del tracto urinario anterior 13 casos (17%) y anomalías del tracto urinario 34 casos (53%), fundamentalmente litiasis. Eran diabéticos 19 (26%) y estaban embarazadas 6 pacientes (8%). La clínica consistía en fiebre en el 82% de los casos, disuria en el 45%, dolor en el flanco en el 67%, PPR positiva en el 63% y náuseas/vómitos en el 32%. El 75% tenía leucocitosis, el 39% elevación de creatinina y el 11% trombopenia. Se realizó ecografía abdominal en 67 pacientes (92%) y presentaban dilatación pielocalicial 27 y litiasis 12. Los hemocultivos fueron positivos en el 25% y el urocultivo en el 59%. El germen responsable se aisló en 38 pacientes (52%), con preponderancia de *E. Coli* (60%). Se instauró tratamiento con quinolonas en el 46%, cefotaxima en el 26%, gentamicina en el 13% y amoxicilina clavulánico en el 6%. Se cambió el antibiótico empírico por constatar resistencia en 8 pacientes. Requiritieron nefrostomía 16 pacientes (22%) y cirugía 4 pacientes (5%). Los servicios responsables fueron MI en el 43%, urología en el 37%, pediatría en el 9% y ginecología en el 8%. La mortalidad fue del 4%, la estancia media de 6,4 días y reingresaron en los siguientes 6 meses 13 pacientes (17%).

Conclusión: La PI que ingresa en hospital es una patología con un predominio en mujeres de edad media, que en un porcentaje importante presenta antecedentes urinarios, diabe-

tes y embarazo y en la que la ecografía constata obstrucción urinaria parcial o total en la mitad de pacientes requiriendo procedimiento terapéuticos agresivos casi un 30%.

500

CAMBIOS EN LA ETIOLOGÍA DE LAS URETRITIS MASCULINAS DURANTE UN PERÍODO DE 12 AÑOS

J.A. Uría, L. Otero, M.J. García, V. Palacio, F. Carreño, M. Cuesta, C. Sánchez y F. Vázquez

C. de ETS y Lab. Microbiología (Oviedo y Gijón).

Objetivos: Existen pocos estudios que determinen la evolución de la etiología de la uretritis en los últimos años. En este trabajo evaluamos un período de 12 años (1989-2000) viendo las tendencias en la etiología de la misma.

Métodos: Se estudiaron 2.101 pacientes con uretritis que acudieron a las consultas de ETS de Oviedo y Gijón. Se realizó la misma metodología de tinción de Gram y se cultivaron las muestras para *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, *G. vaginalis*, *Haemophilus* sp, *S. agalactiae*, *Candida* sp, micoplasmas y otros microorganismos. También se detectaron *C. trachomatis* (EIA, PCR y LCR) y *Herpes simplex* (IF y shell-vial).

Resultados: En 1.366 (65%) pacientes hubo 97 casos (7,1%) de uretritis gonocócica, 671 (49,1%) uretritis no gonocócicas (*U. ureaplasma* 38,4%, *C. trachomatis* 8,9%, *T. vaginalis* 1,7%), 82 uretritis mixtas (6%) y 516 patógenos indeterminados (37,8%). Se encontró una disminución significativa de los 6 primeros años a los 6 últimos en los casos por gonococo (70 casos-11% frente a 27-3,7%) y clamidias (79-12,4% frente a 43-5,9%) y un aumento significativo de uretritis por *Ureaplasma urealyticum* (151-23,6% frente a 374-51,4%). También hubo asociación entre uretritis tricomoníasis y presencia de anticuerpos anti-VIH.

Conclusiones: En el período de estudio se ha encontrado un cambio en la frecuencia de los diferentes patógenos causantes de uretritis así como diferentes asociaciones epidemiológicas que muestran a la uretritis como una entidad no homogénea.

501

CHLAMYDIA TRACHOMATIS Y NEOPLASIA DE CÉRVIX UTERINO

C. Pazos, I. Martínez, S. Hernando, L. Molina, S. de Miguel y F. Sanz

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Objetivo: En el IV Congreso Europeo de *Chlamydia* (2000) el grupo de estudio sobre ETS de Madrid, evaluó en 1,6% la infección genital por *C. trachomatis* en mujeres de riesgo. El objetivo de este estudio es evaluar en mujeres con atipias en la citología de cérvix uterino (ASCUS, LSIL y HSIL) el porcentaje de infección genital por *C. trachomatis*.

Material: En el período abril 2000-2001, estudiamos 225 mujeres del Servicio de Ginecología, con atipias citológicas en las muestras de cérvix uterino. Las muestras fueron testadas aplicando el test Digene CT/GC (Hybrid Capture[®] II, Abbott) que detecta DNA bacteriano por hibridación molecular. En cada paciente, además de la atipia citológica, se valoraron otros factores (edad, n^o de parejas sexuales, hábitos tabáquicos, sintomatología e infección por HPV) y se analizaron los datos recogidos.

Resultados: 225 muestras fueron testadas y 15 resultaron positivas para infección por *C. trachomatis*, representando el 6,6% del total de la población a estudio. Dentro del grupo positivo: 1) la media de edad fue de 35 años (rango 28-57); 2) la media de parejas sexuales fue de 3 (rango 1-5); 3) 80% fumadoras (25% de ellas de cocaína y hachís); 4) 100% asinto-

máticas; 5) 80% HSIL y 20% LSIL como atipia citológica; 6) 60% presentaban infección por HPV de alto riesgo (75% en HSIL, tipos 16 y 33 y 33% en LSIL, tipo 16).

Conclusiones: El porcentaje (6,6%) de infección por *C. trachomatis* en este estudio es mayor que el obtenido por el grupo de ETS de Madrid (1,6%). El nº de parejas sexuales, el tabaquismo, la infección por HPV de alto riesgo y la atipia citológica HSIL, parecen destacarse en relación con la infección por *C. trachomatis*. Recientes publicaciones confirman la asociación causal epidemiológica entre *C. trachomatis* y cáncer de cérvix sugiriendo que más estudios serían necesarios. Aunque la asociación de nuestros resultados fuera casual, creemos que podría ser de utilidad para demostrar dicha causalidad, la inclusión del despistaje de infección por *C. trachomatis* en los protocolos de detección de cáncer de cérvix uterino.

502

ETIOLOGÍA Y FACTORES PREDISPONENTES DE LA VULVOVAGINITIS PEDIÁTRICA INFLAMATORIA

J. Cuadros¹, A. Mazón², R. Martínez³, B. Aracil⁴, R. Gonzalez¹, A. Gil-Setas², B. Orden³ y C. Hernaiz⁴. Grupo de Estudio de la Infección en Atención Primaria

¹Hospital de Alcalá, Madrid. ²Ambulatorio Solchaga, Pamplona. ³C.E. Argüelles, Madrid. ⁴Hospital de Móstoles, Madrid.

Objetivos: Determinar la etiología y los factores predisponentes en la vulvovaginitis pediátrica (VP) con exudado inflamatorio.

Métodos: Estudio prospectivo y multicéntrico en niñas de 2 a 12 años con criterios clínicos de VP y exudado vaginal con células inflamatorias en la tinción de Gram. En todos los centros las muestras se procesaron de forma normalizada (medios de AS, Ach, CNA, McK, SC, TM y tinción de Gram) y se practicó a todas las niñas al menos un test de Graham. El médico realizó en todos los casos una encuesta epidemiológica a los padres o tutores

Resultados: En el primer semestre del 2001 se estudiaron 51 pacientes. Edad mediana: 5 años (2-11). Tiempo de evolución previo de la VP (mediana): 8 días. Antecedentes significativos: infección respiratoria previa (23/51; 45%), tratamiento tópico previo (11/51; 22%). Aislamientos: *S. pyogenes* (SP), 26 (51%); *Haemophilus* spp (HS), 8 (16%); *Candida* spp 3 (6%); *S. pneumoniae*, 1 (2%); *S. aureus*, 1 (2%); mixtas, 5 (10%); flora cutánea (*Corynebacterium* spp/*S. coagulasa* (-), 7 (14%). No se detectó ninguna infección por *E. vermicularis* ni *N. gonorrhoeae*.

Conclusiones: La principal causa de la VP inflamatoria son las bacterias de origen respiratorio (SP y HS) y este cuadro se asocia con frecuencia a infecciones respiratorias previas. El tratamiento empírico de las VP deberá incluir como mínimo un agente activo frente a SP y HS (p. ej., amoxicilina/clavulánico o amoxicilina hasta conocer los datos del antibiograma). En futuros estudios deberá aclararse el papel de la mucosa vaginal en la persistencia y diseminación de SP y HS e investigar el potencial invasor, nefritógeno y reumatógeno de las cepas de estas especies aisladas en la VP.

503

ASPECTOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS Y EVOLUTIVOS DE LA SÍFILIS EN UNA CONSULTA DE ETS EN LOS ÚLTIMOS 15 AÑOS

T. Hellin, A. Sousa y A. Pérez Rodríguez
Hospital Ramón y Cajal. Universidad de Alcalá.
Alcalá de Henares, Madrid.

Objetivo: Estudiar los aspectos clínicos, epidemiológicos y evolutivos de los pacientes con sífilis diagnosticados a lo largo de 15 años en la Consulta de Transmisión Sexual (ETS) en un Hospital universitario.

Métodos: Se estudian prospectivamente los pacientes que acuden a consulta de ETS entre los meses de enero del 86 hasta enero del 2001. En todos los pacientes se realizaron de manera prospectiva una historia clínica, una exploración física y exámenes complementarios de laboratorio. El diagnóstico de sífilis se estableció mediante la detección del *Treponema pallidum* en el exudado de las lesiones en el microscopio óptico por técnica de campo oscuro, y detección de anticuerpos no treponémicos mediante test de VDRL y tréponémicos mediante test de FTA (Absorción de anticuerpos fluorescentes contra treponema) y Hemaglutinación de *Treponema pallidum*.

Resultados: En 15 años se diagnosticaron 205 casos de sífilis entre 3.606 pacientes de los cuales 2.630 (73%) tenían ETS. (8% de los infectados). 72 eran mujeres (35%) y 133 varones (65%). 33 de ellos (16%) tenían infección VIH. El 73% de los infectados por VIH eran homosexuales. La presentación más frecuente fue la sífilis latente 169 (80%). 3 de ellas tenían afectación del sistema nervioso central, una de ellas congénita. En 66 casos 30% coexistían más de una ETS. En los casos de infección VIH la evolución clínica tras el tratamiento fue favorable al igual que en los pacientes sin infección VIH.

Conclusiones: La sífilis no fue una ETS frecuente, representa el 8% del total a lo largo de 15 años. Un 16% de los casos se asociaron a infección VIH. Los pacientes con prácticas homosexuales con infección VIH fueron los más afectados. Una tercera parte de los infectados padecían al menos 2 ETS. La evolución tras el tratamiento fue favorable en todos los casos.

504

NEUROLÚES EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL: ESTUDIO DE 6 AÑOS

G. Sierra*, I. Cahué*, M. Amorín**, M. Mouriño**, M. Telenti* y P.S. Leiva*

*Microbiología y E. Infecciosas, **Neurología, Hospital General de Asturias. Hospital Central de Asturias, Oviedo.

Se han estudiado los casos de neurolúes diagnosticados entre 1995-2001 en un hospital de 3^{er} nivel con el fin de analizar las características clínicas y diagnósticas de esta enfermedad.

Se revisaron las historias de los pacientes diagnosticados de neurolúes por el servicio de neurología y los casos registrados de VDRL positivo en LCR por el laboratorio de microbiología. Se recogieron las características demográficas, clínicas y analíticas.

En los 6 años de estudio se diagnosticaron 17 pacientes de los que se confirmó el diagnóstico en 13; dos se eliminaron por la imposibilidad de revisar la historia clínica y en otros dos el seguimiento no fue compatible con el diagnóstico inicial. No pertenecían a ningún grupo de riesgo, ninguno presentó serología VIH positiva, 12/13 eran varones, la edad media fue de 58 años (45-69). Solo se registró en un paciente antecedente de lúes secundaria. En cinco, se constató antecedente de enfermedad de transmisión sexual.

La clasificación por diagnóstico fue: 2 neurolúes asintomática; 4 meningovasculares y 7 parenquimatosas (3 tabes, 4 parálisis general progresiva). Todos presentaban pruebas reaginicas y treponémicas positivas en suero; en 5 (38%) el VDRL en LCR fue negativo aunque presentaron pleocitosis y alteraciones bioquímicas. Tras el tratamiento los controles sucesivos de LCR se normalizaron.

En contra de lo referido en la bibliografía más reciente, destacamos la ausencia en la presente serie de sujetos VIH positivos, bien sea por la falta de sospecha diagnóstica, la dificultad del diagnóstico de neurolúes en estos sujetos o por el uso frecuente de antibióticos en la población VIH que se atiende en nuestra área sanitaria, lo que puede llevar a la curación de lúes latente.

505

EL CONSUMO DE DROGAS Y LAS ETS. MUJERES ADICTAS PACIENTES DE UNA CONSULTA DE ETS EN LOS ÚLTIMOS 15 AÑOS

T. Hellín, O. Beniandrés y M. Cañadas

Hospital Ramón y Cajal. Universidad de Alcalá. Madrid.

Objetivo: Estudiar la relación que existe entre el consumo de drogas en mujeres y la repercusión en enfermedades de transmisión sexual a lo largo de estos últimos 15 años en una consulta de ETS.

Material y métodos: Se analizan los pacientes vistos en consultas de ETS entre enero de 1986 y enero de 2001, refiriendo antecedentes de prácticas de riesgo para contraer enfermedades de transmisión sexual, como consumo de drogas (ya sean vía intravenosa u otras vías) intercambio sexo-drogas, prostitución, relaciones homosexuales, o contacto con 4 o más parejas sin protección en el último año. De este grupo se recogen solo las mujeres adictas a drogas. En todas ellas se realiza además de una historia y una exploración clínica, el screening para diagnosticar ETS.

Resultados: Se recogen 702 pacientes de los cuales 583 (83%) son VIH positivos, 343 (48%) eran mujeres adictas a drogas. De estas 295 (86%) tenían infección VIH. El 85% intercambiaba sexo por droga, ejerciendo la prostitución. Además de esta infección el 50% de ellas tenían 2 o más ETS, 23% mas de tres ETS. Los agentes mas comunes fueron infección VPH (virus papiloma humano) 280 (81%), vaginitis 190 (55%) de ellas 78 causadas por *T. vaginalis*, 75 *Candida* sp, y 37 *Gardnerella vaginalis*. Veinticinco (7,2%) tenían herpes genital. 15 Sífilis (4,5%), 6 *C. trachomatis* (2%), 4 *N. gonorrhoeae* (1%), 1 *H. ducreyii* (0,2%) y 1 *S. scabiei* (0,2%). Veintisiete (8%) presentaron Enfermedad Inflamatoria Pélvica.

Conclusiones: La infección VIH está en clara relación con el consumo de drogas en la mujer. El 85% de estas mujeres adictas acabaron por prostituirse para conseguir la droga. Una de cada cuatro tiene 3 o más ETS asociadas. Doscientas ochenta de estas (81%) son víricas, con la consiguiente dificultad en su erradicación, lo que aumenta la morbimortalidad, no sólo en ésta población femenina, sino también en sus parejas sexuales, y en los niños nacidos de estas mujeres infectadas. La adicción en la mujer, supone un alto riesgo para la salud pública.

506

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DE LA DIARREA ASOCIADA A CLOSTRIDIUM DIFFICILE. DIVERSIDAD ENTRE HOSPITALES ESPAÑOLESR. Alonso, A. Martín, T. Peláez, E. Bouza y el Grupo Español para el Estudio de *Clostridium difficile**Hospital Gregorio Marañón. Madrid.*

Introducción y objetivos: Es bien conocida la variabilidad de la incidencia de diarrea asociada a *C. difficile* (DACD) tanto entre regiones como entre distintas instituciones. No obstante, se conoce poco acerca de la metodología empleada para su diagnóstico en los distintos hospitales europeos. El grupo de estudio de *C. difficile* de la ESCMID ha propuesto una encuesta europea de la que el presente trabajo ofrece los datos pertenecientes a España.

Materiales y métodos: El estudio consistió en el envío de una encuesta a 23 Hospitales de nuestro país, solicitando información sobre la población atendida, procedimientos diagnósticos, estudios de sensibilidad y técnicas complementarias aplicadas a *C. difficile* durante el año 2000.

Resultados: Las incidencias de DACD oscilaron de 0,06 a 12 casos/1.000 ingresos (media 2 casos/1.000 ingresos). Veintiún laboratorios (91,3%) cuentan con un sistema de diagnóstico de urgencia, 6 (26%) utilizan el cultivo en medio selectivo, 22 (96%) cuentan con un sistema ELISA para la detección de toxinas (A, 20 (87%) y A + B, 2 (9%)) y 3 (13%) pueden realizar

el ensayo de citotoxicidad en cultivo de fibroblastos. Sólo un laboratorio (4%) realiza e informa regularmente la sensibilidad del microorganismo a fármacos antimicrobianos. Dos laboratorios (9%) tienen disponible un ensayo de PCR para la detección de *Clostridium difficile*. y 2 (9%) pueden realizar técnicas moleculares de tipación epidemiológica (PFGE y/o RAPD). El porcentaje de positividad de los laboratorios encuestados varió del 1% al 29% (media 10,75%)

Conclusiones: La DACD es un problema que afecta con incidencia variable a la mayoría de las instituciones españolas. Las técnicas empleadas por los laboratorios de microbiología distan de ser uniformes y por ello es necesario un consenso que garantice una recuperación adecuada del microorganismo y permita la comparación intercentro.

507

BROTE NOSOCOMIAL DE DIARREA POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE EN UN SERVICIO QUIRÚRGICO

R. Pazos, A. Isusi, R. Fernández, L. Barbeyto, I. Cantón, M. Bustillo, R. Gómez, R. Barreiro y O. Fernández

Hospital Cristal-Chou. Ourense.

La infección por *Clostridium difficile* es la causa más frecuente de diarrea nosocomial. En España es una entidad poco descrita; presentamos un brote epidémico en el Servicio de Cirugía Vasculard.

Material y métodos: En un período de 5 meses (septiembre 00-enero 01) detectamos 35 casos de diarrea por *C. difficile* (DCD) en 31 pacientes. El diagnóstico se hizo con la detección de toxina A en heces mediante EIA. En el estudio descriptivo se confirma un brote con 12 DCD en C. vascular. Los casos del brote se compararon con 15 controles seleccionados aleatoriamente, ingresados en dicho Servicio en el mismo tiempo y que no presentaron diarrea. Se utilizó el programa informático SPSS.

Resultados: La incidencia global fue 3,42 casos/1000 ingresos, 48 casos/1000 ingresos en C. Vascular. La edad media fue 71 años (IC95% 66-76) y el 63% eran varones. Un 97% de las DCD fueron nosocomiales y un 60% se localizaron en Servicios quirúrgicos. Tenían enfermedad de base fatal 18 pacientes y tan sólo uno era VIH+. 17 enfermos fueron sometidos a cirugía. En el 80% de las DCD se usaron antibióticos previamente: media de 2,91 antibióticos por paciente (IC95% 2,2-3,5). Sólo en el 11,4% de los casos el tratamiento antibiótico fue como profilaxis. Se usó clindamicina en 18 casos, 10 de ellos en C. Vascular. Se trataron con metronidazol el 80% de las DCD y con vancomicina oral el 8,6%. La mortalidad global fue 8,6%, ningún éxito se relacionó directamente con DCD. Hubo recidiva en 5 enfermos tratados.

En el estudio de casos-controles de C. Vascular se apreció en el análisis uni-variante: mayor estancia hospitalaria, un uso más frecuente de clindamicina y mayor número de antibióticos con fines terapéuticos en los "casos" que en los "controles". En el análisis multivariante sólo el uso de clindamicina (OR 6) y el tratamiento con > 2 antibióticos (OR 5) se identificaron como variables independientes aunque sin significación estadística. Para el control del brote de DCD se indicaron medidas de aislamiento y modificaciones en la política antibiótica del Servicio, que resultaron eficaces.

508

BROTE DE ORIGEN HÍDRICO POR CAMPYLOBACTER FETUS EN GIPUZKOAM. Gomariz, J. Artieda, A. Iturzaeta, M. Montes y E. Pérez-Trallero
Servicio de Microbiología, Hospital Donostia y Dpto. de Sanidad. San Sebastián.

Introducción: *C. fetus* es un patógeno generalmente oportunista que produce infección sistémica en pacientes con enfermedades debilitantes. Sólo excepcionalmente causa gas-

troenteritis sin afectación general razón por la cual, o no es investigado sistemáticamente o puede pasar desapercibido en la rutina del coprocultivo. Los humanos pueden infectarse a partir del agua o alimentos contaminados por las heces de animales.

Métodos: *C. fetus* fue identificado por métodos convencionales y confirmado por PCR y sondas de hibridación. PFGE se usó para establecer su relación epidemiológica.

Resultados: Describimos un brote de enteritis por *C. fetus* cuya extensión real desconocemos pero que fue confirmado en 5 casos en el plazo de 2 semanas. La rápida actuación del Dpto. de Sanidad con la prohibición temporal del consumo de agua de las fuentes puso fin al brote. Dos de los 5 casos confirmados cursaron como enteritis autolimitada de varios días de duración.

Las cepas clínicas fueron iguales (fenotipo y PFGE). La encuesta epidemiológica involucró a dos fuentes cercanas entre sí. El análisis de agua de las fuentes mostró su no potabilidad, pero no se aisló de ella el *C. fetus*.

	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4	Caso 5
Edad (sexo)	64 a (H)	80 a (H)	16 a (H)	16 a (H)	17 a (H)
Clínica	tromboflebitis fiebre	diarrea, sepsis, fiebre	abdomen agudo, fiebre	diarrea	diarrea, fiebre
Aislam. <i>C. fetus</i>	sangre	sangre	sangre + heces	heces	heces
Hospitalización	sí	sí	sí	no	no

509

INFECCIONES EXTRAINTESTINALES PRODUCIDAS POR *SALMONELLA* SP EN EL ÁREA 2 DE LA PROVINCIA DE CASTELLÓN. (1993-2000)

M. Gil, M.D. Tirado, R. Moreno, D. García, F. Pardo, S. Sabater y J.V. Galiano

Microbiología. Hospital General de Castellón.

Objetivo: Conocer la frecuencia de infecciones extraintestinales producidas por *Salmonella* sp en nuestro medio.

Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo de los pacientes en los que se aisló *Salmonella* desde el año 1993 al 2000. En los casos en los que la infección fue extraintestinal, se recogieron datos referentes a edad, sexo, estado de portador de VIH, serotipo de *Salmonella* y tipo de muestra en la que fue aislada.

Resultados: Durante este período, encontramos 1394 pacientes con *Salmonella* sp en cualquier localización, siendo los serotipos más frecuentes *S. enteritidis* (51,3%) y *S. typhimurium* (32,2%). En 67 pacientes (4,8%) el aislamiento fue extraintestinal: 27 (40,3%) casos eran hembras y 40 varones (59,7%). Respecto a la edad se aisló en 26 (38,8%) niños, 23 (34,3%) adultos y 18 (26,9%) mayores de 60 años. Se recuperó *Salmonella* sp en las heces de 33 pacientes, en 13 los coprocultivos fueron negativos y en 21 no se solicitó esta prueba. Se objetivó una bacteriemia por *Salmonella* sp en 52 pacientes y en 6 de ellos se aisló *Salmonella* sp en otras muestras (BAS, LCR, líq. pleural, orina, úlcera, orina y absceso). De los 15 pacientes restantes en 11 se recuperó *Salmonella* sp en orina y en los otros cuatro pacientes en absceso, líquido pleural, herida quirúrgica y empiema. La distribución por serotipos de estas cepas extraintestinales fue: 55,4% *S. enteritidis*, 28,6% *S. typhimurium* y el 16% restante pertenecían a otros serotipos. Sólo en 18 (27%) de los 67 pacientes se solicitó la prueba del VIH, siendo positiva en 11 (61%); de éstos, todos tenían *Salmonella* sp en sangre y sólo uno la tenía también en heces.

Conclusiones: Los pacientes con infecciones extraintestinales por *Salmonella* sp representan en nuestro medio el 4,8% del total de pacientes con Salmonelosis, siendo los más susceptibles los inmunodeprimidos, niños y ancianos.

510

ABSCEOS HEPÁTICOS PIÓGENOS. REVISIÓN DE NUESTROS CASOS, DOS DE ELLOS DE ETIOLOGÍA INUSUAL

R. Cañizares, P. Roig, A. Esparcia, M. Navarro, J.M. Cuadrado y J. Merino

Hospital Universitario de San Juan. Alicante.

Introducción: El absceso hepático piógeno es una patología poco frecuente, de baja incidencia y elevada mortalidad. Su pronóstico ha mejorado en los últimos años, gracias a la realización de drenaje percutáneo guiado por técnicas de imagen, junto al uso de nuevos antimicrobianos.

Material y métodos: Revisamos retrospectivamente los casos de abscesos hepáticos piógenos diagnosticados en nuestro hospital desde agosto de 1994 a octubre de 2001. Describimos nuestra experiencia respecto a la clínica, agentes etiológicos, diagnóstico y abordaje terapéutico. Encontramos 15 casos, destacando en 2 de ellos su etiología infrecuente.

Resultados: 12 (80%) eran varones y 3 (20%) mujeres. Edad media 53 años (rango 13-88). Presentaban factores predisponentes 11 (73%), en 4 (27%) el origen fue criptogenético. Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron fiebre 15 (100%) y dolor abdominal 8 (53%). Tenían leucocitosis con neutrofilia 10 (67%) y aumento de fosfatasas alcalinas y de GGT 15 (100%). Se halló un único absceso en 12 (80%) y múltiple en 3 (20%). El agente etiológico se obtuvo mediante punción aspiración con aguja fina (PAAF) hepática en 13 (87%) y en 2 (13%) por hemocultivos. Trece de los abscesos fueron monomicrobianos (87%) con aislamientos de *E. coli* (4), *Fusobacterium necrophorum* (1), *K. pneumoniae* (2), *S. viridans* (1), *E. cloacae* (1), *S. intermedius* (1), *S. constellatus* (1), *G. morbillorum* (1), *P. asaccharolytica* (1) y 2 polimicrobianos (14%) con *E. coli* y *P. vulgaris* (1), y *S. milleri* y *F. necrophorum* (1). En todos se instauró tratamiento antimicrobiano, en 10 (67%) se realizó además drenaje percutáneo y en 3 (20%) punción aspiración con aguja (PAA). La evolución fue favorable en todos los casos, excepto dos pacientes que fallecieron.

Conclusiones: 1) La forma de presentación más frecuente fue la fiebre y el dolor abdominal. 2) La evolución fue favorable en el 87% de los casos, con tratamiento antibiótico y drenaje percutáneo. 3) Destacamos la presencia de 2 gérmenes no descritos como causa de abscesos hepáticos, como *G. morbillorum* y *P. asaccharolytica*.

511

ESCHERICHIA COLI VEROTOXIGÉNICO COMO CAUSA DE DIARREA EN LA PROVINCIA DE GUADALAJARA

E. Rodríguez, T. Pérez Pomata, J. Palomo, P. Zamarrón, C. Gimeno, A. González Praetorius y J. Bisquert

Hospital General de Guadalajara.

Objetivo: Conocer la incidencia de gastroenteritis causada por *Escherichia coli* verotoxigénico (VTEC) en la provincia de Guadalajara.

Métodos: Se incluyeron todas las muestras de heces de pacientes con diarrea atendidos en consultas de atención primaria y especializada, urgencias y plantas de hospitalización del Hospital General de Guadalajara entre el 15 de octubre de 2000 y el 15 de octubre de 2001.

Todas las muestras fueron sembradas en medios habituales y en placas de MacConkey-sorbitol. Las colonias no fermentadoras de sorbitol fueron identificadas a nivel de especie mediante API 20E (Biomerieux) y aglutinadas con antisuero frente al antígeno O:157 (Difco). Además, las heces que presentaban leucocitos fueron sembradas en caldo MacConkey que se incubaba a 37 °C durante 24 h; en aquellas muestras de las que no se aisló ningún enteropatógeno se investigó la

presencia de verotoxina de *E. coli* a partir del caldo MacConkey mediante EIA Premier EHEC (Meridian).

Resultados: Se sembraron 1071 muestras en MacConkey sorbitol y se estudió la presencia de verotoxina de *E. coli* en 95. Se aisló una cepa de *E. coli* O:157 con resultado negativo en el estudio de verotoxina mediante EIA. Las heces de una niña de 5 años fueron positivas por EIA; la paciente se recuperó satisfactoriamente de la diarrea sin recibir tratamiento antimicrobiano.

Conclusiones: La baja incidencia (0,09%) de VTEC detectada en este estudio no justifica su investigación rutinaria en nuestro medio, si bien debería ser tenido en cuenta cuando se investiguen brotes de gastroenteritis, una vez descartadas las causas más frecuentes.

512

CARACTERÍSTICAS DE LOS AISLAMIENTOS DE COPROCULTIVOS DEL ÁREA DE BILBAO

M. Sota, F. Rivas, V. Esteban, J.A. Alava, C. Aspichueta, P. Liendo y R. Cisterna

Hospital de Basurto.

Objetivos: Describir las principales características de los aislamientos de coprocultivos del área de Bilbao.

Métodos: Estudio retrospectivo de los aislamientos de enteropatógenos procesados en la Sección de Microbiología del ambulatorio Indautxu y de la Sección de coprocultivos, pertenecientes al Servicio de Microbiología del Hospital de Basurto, desde abril de 1998 hasta octubre del 2001. Hemos valorado el tipo de aislamiento, patrón de sensibilidad/resistencia, edad y sexo.

Resultados: Durante el período de estudio se han analizado 15.637 coprocultivos, aislándose 3.072 enteropatógenos: *Salmonella* spp. 1.929 (62,79%), *Campylobacter* spp. 1.101 (35,84%), *Yersinia enterocolitica* 21 (0,68%), *Aeromonas hydrophila* 12 (0,39%), *Shigella* spp. 7 (0,23%), *Plesiomonas shigelloides* 2 (0,07%). El 55,93% de los aislamientos pertenecen a varones y el 44,07% a mujeres, dentro de los siguientes intervalos de edad: de 0 a 35 meses 867 (36,28%), de 36 meses a 6 años 350 (14,64%), de 7 a 13 años 165 (6,90%), de 14 a 45 años 522 (21,84%), de 46 a 65 años 240 (10,04%) y ≥ 66 años 246 (10,29%). Sensibilidad de los aislamientos más frecuentes frente a los siguientes antibióticos para *Salmonella* ser. *enteritidis*: ampicilina 76,78%, cefotaxima 100%, cotrimoxazol 96,51% y ofloxacino/ciprofloxacino 99,65%; para *Salmonella* ser. *typhimurium*: ampicilina 20,35%, cefotaxima 100%, cotrimoxazol 76,23% y ofloxacino/ciprofloxacino 100%; para *Campylobacter jejuni*: eritromicina 99,15% y ofloxacino/ciprofloxacino 25,45%.

Conclusiones: *Salmonella* spp. (*Salmonella* ser. *enteritidis*) es el microorganismo más frecuentemente aislado de los coprocultivos realizados en nuestro medio. Los aislamientos predominan en pacientes de sexo masculino y en edades inferiores a 6 años.

513

ETIOLOGÍA DE LAS GASTROENTERITIS INFECCIOSAS. CALICIVIRUS, UN VIRUS EMERGENTE

J.A. Boga, I. de Diego, M. Villar, J.F. Ordás, M. de Oña, J. Méndez y S. Melón

Servicio de Microbiología I, Hospital Central de Asturias, Oviedo.

Introducción: Dada la alta incidencia en la población infantil de las gastroenteritis infecciosas se estudiaron los microorganismos causantes de esta patología en heces de niños con gastroenteritis.

Materiales y métodos: Se analizaron 363 muestras pertenecientes a 363 pacientes con una edad media de 2,6 años que

fueron recogidas durante un año (noviembre de 2000 a octubre de 2001). Los agentes bacterianos fueron aislados mediante su propagación en los medios de crecimiento clásicos. Los virus se identificaron mediante sistemas comerciales basados en la técnica del ELISA, excepto los *Calicivirus* para los que se desarrolló un sistema de detección de un fragmento de la región codificadora de la RNA polimerasa viral basado en la RT-PCR.

Resultados: Se identificaron patógenos en 184 muestras (50,7%), tanto bacterias (24,3%) como virus (22,3%), con un 4,1% de infecciones mixtas. Los virus identificados eran miembros de los géneros *Rotavirus* (34,3% de las muestras positivas), *Calicivirus* (8,1%), *Astrovirus* (4,0%) y *Adenovirus* (3,6%). Por su parte, las bacterias aisladas pertenecían a los géneros *Campylobacter* (26,6%), *Salmonella* (21,1%) y *Yersinia* (2,0%). Se estudió la textura de las muestras diferenciándola entre heces líquidas, blandas y normales identificando patógenos en el 62,2%, 54,3% y 30% de los casos ($p = 0,002$). Destaca la asociación significativa de bacterias a heces líquidas (39,7%, 23,5% y 12,8%; $p = 0,0013$). También se estudió la distribución por edades destacando el hecho de que en las muestras provenientes de niños menores de 2 años se identificaron más virus que en las de los mayores de 2 años (35,2% vs. 11,4%; $p = 0,003$). Sin embargo, las bacterias no presentaban ninguna correlación con la edad.

Conclusiones: De este estudio se deduce la importancia de los agentes virales como principal causa de gastroenteritis en niños menores de dos años, destacando los *Rotavirus* por su elevada frecuencia y los *Calicivirus* por ser un virus emergente para el que no existen métodos de diagnóstico.

Sesión 24 Infecciones nosocomiales

514

APLICACIÓN INFORMÁTICA PARA EL SEGUIMIENTO Y CONTROL DE LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL

L.F. Sanjuán y F. Faus

Departament d'Infermeria. Universitat de València.

Objetivos: Se pretende demostrar la utilidad de una aplicación informática, basada en FileMaker 4.0, para la vigilancia de la Infección Nosocomial.

Materiales y métodos: Para llevar a cabo el control de la infección hospitalaria se necesita un personal competente y un soporte logístico e informática propio que permita confeccionar bases de datos dinámicas y elaborar informes y análisis oportunos. Desarrollamos una aplicación operativa en plataformas APC y Mac, que utiliza y combina los criterios y codificación del EPINE con una encuesta que recoge la información a pie de cama, que relaciona un conjunto de bases de datos (BD) que permiten informatizar las variables relacionadas con las infecciones nosocomiales y realizar informes periódicos a demanda del usuario por períodos y/o unidades asistenciales.

Resultados: Las pruebas realizadas con BD "reales modificadas", han sido satisfactorias y los informes aportan la siguiente información:

Datos globales: nº pacientes expuestos, estancias, estancia media, nº y % de pacientes infectados, éxitos, % de éxitos con infección, razón de infecciones: pacientes expuestos y tasa de incidencia anual.

Infecciones nosocomiales: relación nominal, frecuencia, porcentaje y tasa de incidencia anual.

Microorganismos causales: relación nominal, frecuencia, porcentaje y tasa de incidencia anual.

Antibióticos: relación nominal, frecuencia y porcentaje.

Además la aplicación permite insertar comentarios y gráficos, operar mediante opción multiusuario y exportar los resultados en diferentes formatos para trabajarlos con otras aplicaciones informáticas. También dispone de normas para validar los datos y de una instrucción para garantizar la confidencialidad de la información.

Conclusiones: Pensamos que esta aplicación aporta una información rápida y eficaz en forma de informes para el seguimiento, control y evaluación de las tasas de infección nosocomial.

515

PROGRAMA INFHOS: SISTEMA DE INFORMACIÓN PARA LA MONITORIZACIÓN EN TIEMPO REAL DE LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL

P. López Arbeloa, C. Ezpeleta Baquedano, R. Herrero Heredero y R. Cisterna Cáncer

Hospital de Basurto. Bilbao.

Objetivo: Desarrollo de un Sistema de Información integrado para la monitorización de la infección nosocomial (IN). El objetivo de este estudio es presentar los resultados del contraste del programa INFHOS con el EPINE.

Material y métodos: El programa INFHOS detecta a los pacientes con IN analizando los datos clínicos, microbiológicos y de consumo de antibióticos a través de los registros informáticos disponibles en el hospital. Cataloga a los pacientes en cuatro grupos: sin infección, IN posible, IN probable, IN cierta. En el caso de pacientes con IN se registra la siguiente información adicional: Criterio utilizado para establecerla (microbiológicos, uso de antibióticos, clínico), período de actividad de la infección. En este estudio se comparan los casos de infección nosocomial de EPINE 2001 en el Hospital de Basurto (se excluyen psiquiatría y corta estancia en los que EPINE no detectó infecciones) con los casos identificados como ciertos por el programa NFHOS y se analizan las divergencias.

Resultados: Se estudiaron 497 pacientes-130 en cirugía, 30 en UCI y 337 en otras unidades. Mediante el estudio EPINE se detectaron 31 IN de las que 28 fueron identificadas como IN ciertas por INFHOS. En los pacientes sin IN según EPINE INFHOS detectó 28 IN de las cuales sólo 3 estaban en período de actividad el día que se realizó el EPINE. Analizados estos 3 casos 2 correspondían a infecciones comunitarias y 1 era una bacteriemia por estafilococo coagulasa negativo en 1/3 hemocultivos valorada como contaminación en el EPINE. Los otros 3 casos discordantes correspondían a una IN detectada tras reingreso, 1 respiratoria y 1 abdominal sin cultivo positivo.

Conclusiones: El equipo de desarrollo de INFHOS considera que los resultados preliminares son prometedores. Esta valoración puede verse reforzada en la medida en que las reglas de construcción de los criterios de INFHOS se puedan enriquecer con la experiencia de su uso, y con las aportaciones de otros hospitales. El mayor logro del programa es cambiar la monitorización de la IN hacia la vigilancia en tiempo real.

516

PROGRAMA DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL ANTE LA CONSTRUCCIÓN DE UN NUEVO HOSPITAL

J.L. Barrio, A. Cotura, M.L. Gálvez, R. Padrós, F. Sánchez y M. Gurguí

Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Introducción: Existen numerosas referencias sobre el riesgo de brotes epidémicos nosocomiales en relación con obras hospitalarias. Nuestro Centro se halla en fase de construc-

ción de un nuevo edificio por lo que se ha establecido un programa de prevención y control de la infección nosocomial (IN), basado en la creación de una comisión de prevención de riesgos, en el establecimiento de normas de prevención estructurales y de circuitos y medidas de control, y en el seguimiento epidemiológico de la IN. Se presenta el diseño y resultados de este último.

Metodología: Es un estudio prospectivo de incidencia de la IN de todos los pacientes ingresados en el área de riesgo próxima a las obras. Los datos son recogidos y procesados por la Unidad de Enfermedades Infecciosas. Los básicos se obtienen del censo de ingresos y las fuentes para la detección de casos son los resultados microbiológicos, la prescripción de antimicrobianos y las visitas seriadas a los diferentes servicios. Los criterios y definiciones de la IN y sus tipos se han basado en los del CDC.

Resultados: Desde primeros de febrero hasta finales de octubre de 2001 se han controlado 4.327 pacientes (intervalo: 193-374 semanales). La incidencia semanal de la IN ha oscilado entre 1,13 y 4,89% (índice que se mantiene por debajo del 5%, cifra límite según diferentes estudios de referencia). No se ha objetivado incremento alguno de la infección respiratoria ni quirúrgica, ni se ha detectado ningún brote epidémico.

Conclusiones: 1) El estudio de incidencia prospectivo es un método útil y exacto para el seguimiento de la IN en relación con la construcción de un nuevo centro. 2) No se ha objetivado un incremento del índice de dicha infección, ni se han detectado brotes epidémicos. 3) El equipo que realiza el seguimiento epidemiológico es el mismo que dirige y controla las medidas de prevención, lo que permite adecuar los recursos. 4) Las medidas de prevención adoptadas han sido eficaces para evitar el riesgo de IN en relación con las obras del nuevo hospital.

517

ESTUDIO NACIONAL DE VIGILANCIA DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL EN PACIENTES CRÍTICOS (ENVIN-UCI). AÑO 2000

F. Álvarez-Lerma, M. Palomar, J. Insausti, P. Olaechea, M.A. de la Cal y Grupo de Estudio de Vigilancia de Infección Nosocomial en UCI

Hospital del Mar. Barcelona.

Objetivo: Presentar las tasas nacionales de infección adquirida en UCI, relacionadas con ventilación mecánica (VM), sonda uretral (SU) y catéter vascular (CV), correspondientes al año 2000.

Métodos: Estudio de incidencia, prospectivo y multicéntrico. El seguimiento se ha realizado hasta el alta de UCI o hasta un máximo de 30 días. La gravedad se ha calculado con el sistema APACHE II. Se han monitorizado neumonías relacionadas con VM (N-VM), infecciones urinarias relacionadas con sonda uretral (IU-SU) y bacteriemias primarias (BP) y relacionadas con CV. Las tasas se expresan por densidad de incidencia (DI) por 1.000 días del factor de riesgo. Los numeradores son infecciones definidas según criterios CDC. Los denominadores han sido los días de cada factor de riesgo. La recogida de datos se ha realizado utilizando un programa propio desarrollado con la base Access 97.

Resultados: Se han incluido 5.165 pacientes, pertenecientes a 69 UCIs de 64 hospitales. La edad media ha sido de 59,6 a (24,4), siendo el 33,6% > de 70 años. La patología de base ha sido: médica (35,4%), coronaria (31,7%), quirúrgica programada (21,1%) y traumática (11,85). Un 14,2% de los pacientes precisaron cirugía urgente. El APACHE II medio fue 12,9 (8) y la mortalidad global del 11,4%. Las tasas y los días de riesgo han sido para cada infección los siguientes: N-VM: 20,322 días de VM, 347 N-VM, DI: 17,08 por 1.000 días de VM
IU-SU: 29,910 días de SU, 164 IU-SU, DI: 5,48 por 1.000 días de SU

BP/CV: 42.604 días de CVC/CA, 171 BP/BCV, DI: 4,01 1000 días CV

Conclusiones: Se han identificado las tasas nacionales de infección adquirida en UCI en el año 2000.

518

EVOLUCIÓN DE LA INCIDENCIA ACUMULADA DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL EN UNA UNIDAD DE MEDICINA INTENSIVA

J. Hernández, M.J. Cruz y A. Figuerola

Hospital de Gran Canaria Dr. Negrin. Las Palmas.

Objetivos: Analizar la evolución de la infección nosocomial en una Unidad de Medicina Intensiva de un hospital terciario.

Métodos: Se ha realizado un estudio prospectivo en una Unidad de Medicina Intensiva durante el período comprendido desde el 1 de julio de 1998 hasta el 1 de julio de 2001. Se han incluido aquellos pacientes ingresados más de 48 horas en la unidad. La información se ha recopilado mediante seguimiento diario de la evolución del paciente, revisión de la historia clínica, notas de enfermería y resultados microbiológicos. Los criterios diagnósticos de infección utilizados son los recomendados por los Centers for Disease Control. La medida utilizada ha sido la Incidencia Acumulada (I.A. = número de infecciones nosocomiales/total de pacientes estudiados por 100), analizando la evolución mediante el test de la Chi² de tendencia.

Resultados:

En el segundo semestre de 1998 la I.A fue del 57%

En el primer semestre de 1999 la I.A fue del 61%

En el segundo semestre de 1999 la I.A fue del 52%

En el primer semestre de 2000 la I.A fue del 40,45%

En el segundo semestre de 2000 la I.A fue del 33,83%

En el primer semestre del 2001 la I.A fue del 38,6%

Al analizar la tendencia a lo largo del período de estudio se ha detectado que la disminución de la incidencia acumulada de infección nosocomial es estadísticamente significativa ($\chi^2 = 207,35$, $p < 0,001$).

Conclusiones: El sistema de vigilancia y control de la infección nosocomial implantado en nuestro hospital ha resultado ser una medida eficaz para su control y seguimiento.

519

INFECCIÓN NOSOCOMIAL EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS DE NEONATOLOGÍA

A. Gasch, B. Suárez, E. Arroyo, C. Llanos, C. Zamarrigo, M. Conde y C. Nieto

Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública.

HH.UU. Virgen del Rocío de Sevilla.

Objetivos: 1) Determinar el riesgo de infección nosocomial en la UCI Neonatal del los HH.UU. Virgen del Rocío. 2) Conocer los patógenos reponsables según el foco de infección.

Métodos: Estudio de vigilancia prospectivo (01-04-01/30-09-01) de todos los pacientes ingresados en la UCI neonatal durante al menos 24 h. El seguimiento se continuó hasta las 48 h tras el alta de la UCI. Para la definición de caso se utilizaron los criterios CDC-88. El registro y procesamiento de datos se llevó a cabo con el programa EpiInfo.

Resultados: Durante el período de vigilancia fueron hospitalizados 136 pacientes durante un total de 1.418 días, con una edad media de $4,8 \pm 13$ días. El 62,5% fueron varones. Se infectaron 23 pacientes con un total de 27 infecciones. La estancia media de los pacientes en estudio fue de 13 ± 33 días. Se encontró asociación significativa entre los días de estancia y la presencia de infección nosocomial (33 días en los que se infectan frente a 7 días para los no infectados, $p < 10^{-6}$). La in-

cidencia acumulada de pacientes infectados fue de 15,4% (densidad de incidencia de 1,5%). El riesgo de infección nosocomial se sitúa en cerca de 20 infecciones por 100 pacientes hospitalizados (2 infecciones por 100 días de hospitalización). Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron: *S. epidermidis* (37%), *K. pneumoniae* (15%), *P. aeruginosa* (7,5%), *C. parapsilosis* (7,5%). La distribución de frecuencias según la localización fue la siguiente: bacteriemia primaria 63%, infección ocular 19%, neumonía 7%, otras 11%.

Conclusiones: Las bacteriemias representan cerca de las dos terceras partes de las infecciones nosocomiales, siendo el microorganismo principalmente implicado en aquéllas *S. epidermidis* (60% de los casos). Las tasas de incidencia en esta Unidad se asemejan a las encontradas durante el mismo período en la UCI Pediátrica de nuestro hospital.

520

INCIDENCIA DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL EN UNA UNIDAD PEDIÁTRICA DE CUIDADOS INTENSIVOS

M. Conde, A. Gasch, C. Carreño, E. Arroyo, J.A. Soult, T. Prados y M. Muñoz

Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública.

HH.UU. Virgen del Rocío de Sevilla.

Objetivos: 1) Conocer la tasa de infección nosocomial en la UCI Pediátrica de los HH.UU. Virgen del Rocío. 2) Describir la localización de la infección y los gérmenes implicados.

Métodos: Estudio de vigilancia prospectivo (01-04-01/30-09-01) de todos los pacientes ingresados en la UCI pediátrica durante al menos 24 h. El seguimiento se continuó hasta las 48 h tras el alta de la UCI. Para la definición de caso se utilizaron los criterios CDC-88.

Resultados: Durante el período de vigilancia fueron hospitalizados 211 pacientes durante un total de 1.307 días, con una edad media de $3,7 \pm 4,4$ años. El 56% fueron varones. Se infectaron 27 pacientes con un total de 49 infecciones. La estancia media de los pacientes en estudio fue de $6,4 \pm 14$ días. Se encontró asociación significativa entre la estancia media y la presencia de infección nosocomial (18 días en los que se infectan frente a 4 días para los no infectados, $p < 10^{-6}$). La incidencia acumulada de pacientes infectados fue de 12,8% (densidad de incidencia de 2,1%). El riesgo de infección nosocomial fue de 23,2 por 100 pacientes hospitalizados y de 3,7 por 100 días de hospitalización. Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron: *S. epidermidis* (14%), *P. aeruginosa* (14%), *K. pneumoniae* (8%), *E. cloacae*, *S. aureus*, *S. hominis*, *E. faecalis* y *S. haemolyticus* (6% respectivamente). La distribución de frecuencias según la localización fue la siguiente: bacteriemia 47%, meningitis/ventriculitis 10%, bronquitis/traqueobronquitis 10%, neumonía 10%, otras 23%.

Conclusiones: Las tasas de incidencia encontradas en la Unidad durante el período de estudio se asemejan a las referidas en la literatura. Las bacteriemias primarias representan casi la mitad de los casos de infección nosocomial, seguida de las infecciones respiratorias (20%). El análisis de los factores de riesgo implicados nos permitirá poner en marcha medidas específicas de prevención de la infección nosocomial.

521

ESTUDIO NACIONAL DE VIGILANCIA DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL (ENVIN) Y PANCREATITIS AGUDA GRAVE (PAG) EN UCI

E. Maraví-Poma, B. Bermejo, A. Lander, A. Tellería, J.M. Martínez e I. Jiménez, y GTEI-ENVIN-SEMICYUC

UCI, Hospital Virgen del Camino, Pamplona.

Objetivo: Prevalencia de IN en pacientes con PAG ingresados en UCI.

Método: Estudio Nacional de Vigilancia Nacional en UCI, prospectivo y multicéntrico. La PAG se han controlado durante dos meses consecutivos desde 1997-2000, en 51 UCI pertenecientes a 41 hospitales de España. La gravedad se ha cuantificado mediante el APACHE II. El seguimiento se ha realizado hasta el alta de UCI o hasta un máximo de 60 días. La PAG fue diagnosticada por criterios de Ecografía, Imrie, PCR, TC-dinámica. Se describe las infecciones adquiridas en UCI y la tasa de incidencia, la mortalidad cruda, datos epidemiológicos, cirugía urgente, clasificación según código del CDC, APACHE II, estancia y SAPS II.

Resultados: De un total de 16.927 pacientes se han incluido 199 (1,18%) pacientes con PAG. La edad, APACHE II, estancia media, fue de 61,7 años, 14,9, 12,2 días respectivamente. La enfermedad de base fue médica (94,5%), traumática (0,5%) y quirúrgica el 5%. El 30,7% fue sometido a cirugía urgente. La incidencia acumulada de IN fue 48,7% y la densidad de incidencia el 40/1000 días de estancia. La mortalidad cruda de este grupo con PAG fue del 31%, y la mortalidad relacionada a la IN fue del 50%. Las 97 IN analizadas: Abdominal: 27,8%; Neumonía/VM: 17,5%; Bacteriemia secundaria a infección abdominal: 12,4%; I. Urinaria relacionada a sonda uretral: 12,4%; Bacteriemia primaria: 10,3%; Bacteriemia secundaria: 1,5%. Se aislaron un total de 66 patógenos: BGN, CGP, Hongos, Enterococos y anaerobios en 58,5%, 24,5%, 17%, 15% y 4% respectivamente. Se usa Imipenem, Piperacilina/tazobactam y Ciprofloxacino en 70%, 19% y 13% respectivamente.

Conclusión: Es muy elevado el índice de gravedad de la PAG. La incidencia, mortalidad cruda y mortalidad relacionada a IN fueron superiores a la media registrada en la literatura. ¿Es necesario prevenir estas IN o repetir el estudio con antibióticos en la PAG?.

522

PROFILAXIS DE COMPLICACIONES SÉPTICAS EN PANCREATITIS AGUDA GRAVE (PAG): ESTUDIO MULTICÉNTRICO, PROSPECTIVO, RANDOMIZADO DE DOS REGÍMENES CON IMPENEM-CILASTATINA

E. Maraví-Poma, E. Domínguez, I. Jiménez, A. Lander, J.M. Martínez, C. León y GTEI-SEMICYUC

UCI, Hospital Virgen del Camino, Pamplona.

Objetivo: Estudios clínicos con Imipenem en PAG, administrados en las primeras 120 horas del comienzo de los síntomas, reduce la incidencia de infección pancreática. **Objetivo:** Estudio de la *duración óptima*: 7, 14, 28 o más días.

Métodos: En un estudio multicéntrico, 74 pacientes con PAG y necrosis > 30% del páncreas (Índice de gravedad CT de 4 – 10 puntos), fueron randomizados en dos grupos: *IMP-1* (41 pacientes), con Imipenem 500 mg i.v./6 h, durante 14 días; e *IMP-2* (33 pacientes): idéntica dosis > 2 semanas, mientras persistía las complicaciones o la PC-reactiva permanecía >120 mg/L. Se estudio la *Sepsis pancreática* (SP), definida como la suma de infección de la necrosis (INP) + Absceso pancreático (AP); *mortalidad cruda*: directa por SP, la asociada a INP y AP; y mortalidad asociada con la forma estéril.

Resultados: La duración en días con IMP-1 (m: 14,4 y SD 2,4) y con IMP-2 (21,6 y SD 10,5) fue diferente (p: 0,001). En el grupo *IMP-1* la incidencia de SP, INP, y AP, fue 11 (26,8%), 4 (9,7%) y 7 (17,0%), respectivamente, y en el *IMP-2* fue 11 (33,3%), 6 (18,2%), 5 (15,2%). Ninguno prevenía las infecciones con mejor eficacia (p: NS respectivamente). La *mortalidad* en los dos grupos no era diferente: *M. Cruda* respectivamente en IMP-1 y 2, fue 14,6 y 15,2% (p: 0,955); la originada por IPN 2,5 y 3,1% (p: NS). Sin embargo, la secundaria a AP era 0% y 6,1%, y la mortalidad en las formas estériles era 4,8% y 3%, respectivamente (p: NS). Al día 14, el subgrupo de pacientes que tenían al menos una complicación mayor, se observó que, la mortalidad era mayor entre

los pacientes que habían dejado de recibir el antibiótico a los 14 días, 31,8% (4/13) frente a 17,4% (4/23).

Conclusión: La profilaxis antibiótica en pancreatitis necrotizante debe mantenerse al menos 14 días, manteniendo más días mientras persista una complicación mayor y la necrosis pancreática permanezca estéril

523

INFECCIONES NOSOCOMIALES EN LA PANCREATITIS AGUDA NECROTIZANTE (PAN). ESTUDIO DE DOS PAUTAS CON IMPENEM

E. Maraví-Poma, I. Susperregui, M.D. Del Baño, L. Torroba, J.M. Martínez, A. Lander A y GTEI-SEMICYUC

UCI, Hospital Virgen del Camino, Pamplona.

Objetivo: Estudio de las *infecciones extrapancreáticas o nosocomiales* (IN) y la mortalidad relacionada.

Métodos: Estudio clínico, prospectivo y multicéntrico de IMP en enfermos con PAN. Se diseñó dos grupos sobre la base de la duración, *IMP-1* (41 pacientes): 14 días con IMP a 500 mg IV c/6 horas; e *IMP-2* (33 p): Idéntica dosis, mientras duren las complicaciones sistémicas de la PAN o persista la PCR > a 120 mg/l, con un mínimo de 14 días. Se analiza la Incidencia de Infección Nosocomial (IN) y la mortalidad relacionada. Se compara con datos del ENVIN.

Resultados: La incidencia de IN y mortalidad fue de 26,8 y 27,3%, respectivamente en el *IMP-1* y 33,3 y 9% en *IMP-2*; Con una incidencia total de 22 PAN con IN (29,7%) y 4 fallecidos/22 (18,2%). IMP-1 y 2 no demostró diferencias significativas, y solo existe una tendencia, mayor mortalidad por IN en IMP-1. Las 3 principales entre 32 IN son: Bacteriemia primaria (14,8%), urinaria (10,8%), neumonía 5,4%. Bacteriología: BGN con 15 microorganismos (46,8%) y cuatro resistentes al IMP; *C. albicans* en el 22%; seguidos de *S. epidermidis* (3 de ellos resistentes al IMP) y *Enterococcus* en el 12,5%. *Cándida albicans*, en total siete, originaron 3 bacteriemias por catéter por si solas, otra asociada a *S. Epidermidis* resistente a IMP y causo la muerte en un caso. El resto de *Candidas* se aislaron en dos I. Urinarias y una I. Orofaringea. Se comparan con datos del ENVIN 1997-2000: En 199 PAG ingresadas en UCIs de España, el 26% presentaron IN controladas, y 48% de IN totales declaradas, con una mortalidad cruda del 31% frente al 15% de las PAG del Estudio con IMP.

Conclusiones: Las IN en PAN tratadas con IMP-1 y 2 son similares y su aparición es similar a la observada en el estudio ENVIN. La mortalidad es menor en el estudio controlado. La *C. albicans* preocupa y plantea otra interrogante ¿realmente es peligrosa y hay que tratarla o prevenirla?.

524

VIGILANCIA DE LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL POR BACTERIAS MULTIRRESISTENTES EN LOS HH.UU. VIRGEN DEL ROCÍO

A. Gasch* M. Conde, J. Aznar, E. Arroyo, M. Ruiz, J.M. Cisneros

Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública.

HH.UU. Virgen del Rocío de Sevilla.

Objetivos: 1) Conocer la tasa de infección/colonización por microorganismos multirresistentes (MR) en los HH.UU. Virgen del Rocío. 2) Identificar el nivel de riesgo de infección en los diferentes Servicios.

Métodos: Estudio de vigilancia prospectivo. Identificación y seguimiento de los pacientes con muestras clínicas positivas para microorganismos MR.

Resultados: Durante el período de vigilancia (01/07/2001 a 30/09/2001) fueron hospitalizados 11.756 pacientes durante un total de 99.657 días. Se aislaron 167 microorga-

nismos MR en primeras muestras. La incidencia global de infección/colonización por bacterias MR fue de 16,8 por 10.000 pacientes-día (14,2 por 1.000 ingresos). *A. baumannii* MR presentó la tasa de incidencia más alta (9,9 por 10.000 estancias), seguido de SARM (5,3 por 10.000 estancias), *K. pneumoniae* ESBL (1,4 por 10.000 estancias) y Enterococo resistente a vancomicina (0,1 por 10.000 estancias). Las tasas más altas de incidencia se encontraron en el Servicio de Rehabilitación, Unidades de Cuidados Intensivos y Servicios de Cirugía Plástica, Cirugía Máxilofacial y Nefrología. *A. baumannii* fue responsable de infección en el 55% de los casos (en el 45% restante sólo coloniza al paciente), mientras que SARM causó infección el 77% de las veces.

Conclusiones: Ya desde 1994, el número de aislamientos de gérmenes multirresistentes en nuestros hospitales se mantiene elevado: la tasa de incidencia se sitúa desde entonces en torno a 10-12 por 10.000 pacientes-día. Los resultados obtenidos en el período actual de vigilancia muestran un aumento de las tasas de ambos gérmenes multirresistentes: la incidencia de SARM se ha incrementado en un 75% respecto al año anterior y la tasa de incidencia de *A. baumannii* aumentó aproximadamente un 50%. A la vista de los resultados, se hace necesaria la implantación de un programa específico de lucha contra la difusión de bacterias multirresistentes en los Servicios de mayor riesgo.

525

ENTEROCOCCUS FAECIUM CON RESISTENCIA A AMPICILINA. FACTORES DE RIESGO EN PACIENTES CON BACTERIEMIA

J. Fortún, T. Coque, P. Martín-Dávila, L. Moreno, R. Cantón, E. Loza, F. Baquero y S. Moreno

Servicios de Enfermedades Infecciosas y Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Las características epidemiológicas de *Enterococcus faecium* sensible a vancomicina y resistente a ampicilina no son bien conocidas. Recientemente, estas cepas de enterococos han sido propuestas como sustrato para el posterior desarrollo de resistencia a vancomicina.

Material y métodos: Se revisaron las historias clínicas de todos los pacientes con bacteriemia por *E. faecium* observadas en nuestro Hospital durante los años 1994 a 2000. Se compararon los datos demográficos, características clínicas, exposición antibiótica y evolución de los pacientes con aislamientos resistentes a ampicilina (CMI > 16 µg/ml, según criterios NCCLS), en relación a los pacientes con aislamientos sensibles a ampicilina. Se realizó un análisis de clonalidad de las cepas mediante electroforesis en campo pulsado (PFGE).

Resultados: Se evaluaron 49 casos de bacteriemia por *E. faecium*. Se identificaron 29 pacientes con aislamientos resistentes a ampicilina y 20 pacientes con aislamientos sensibles. En análisis multivariante, sólo la administración de betalactámicos (OR: 6,3; IC95%: 1,12-20,0) y la cateterización urinaria (OR: 4,2; IC95%: 1,3-30,0) se asociaron de forma independiente con el desarrollo de bacteriemia por cepas resistentes a ampicilina. El único factor que se asoció con una mayor mortalidad en el análisis multivariante fue la presencia de un índice de APACHE II elevado (OR: 13,5; IC95%: 1,04-175,4). El análisis de los clones demostró una clara asociación entre los pacientes con bacteriemia por cepas resistentes a ampicilina y la ubicación de los pacientes en el hospital.

Conclusión: La resistencia a ampicilina en pacientes con bacteriemia por *E. faecium* se asocia de forma independiente con el uso previo de betalactámicos y la cateterización urinaria. La agrupación de clones en determinadas zonas del hospital sugiere una transmisión nosocomial. La resistencia a ampicilina en los pacientes con bacteriemia por enterococo no se asocia a una mayor mortalidad.

526

EPIDEMIOLOGÍA DE LA RESISTENCIA DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA A IMPENEM EN UN HOSPITAL TERCIARIO

I. Martínez, L. Molina, S. de Miguel, C. Campelo y F. Chaves.

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.

Objetivo: *P. aeruginosa*, uno de los principales patógenos nosocomiales, es un organismo que posee múltiples mecanismos de resistencia a antibióticos. En el caso de Imipenem (IMP), el principal mecanismo descrito es la pérdida de la Porina Opr D2. En este estudio se analiza la situación global de la resistencia a IMP en *P. aeruginosa* y se evalúan posibles factores de riesgo.

Métodos: Se utilizó la base de datos del sistema Wider I (F. Soria Melguizo, S.A.) evaluándose los aislamientos de *P. aeruginosa* testados frente a IMP en el Servicio de Microbiología durante el año 2000. En todos los pacientes con aislados clínicos IMP-R (CMI ≥ 16 µg/ml) se revisó retrospectivamente la historia clínica en busca de posibles factores predisponentes.

Resultados: En el año 2000 se obtuvieron un total de 619 aislamientos de *P. aeruginosa* procedentes de muestras clínicas; 387 de los cuáles, correspondientes a 280 pacientes, fueron testados frente a IMP. En 52 aislados (13,4%) correspondientes a 26 pacientes (9,2%), la bacteria se mostró resistente al antibiótico, siendo las muestras de origen respiratorio (56% de pacientes), exudados de herida quirúrgica-abscesos (24%), líquidos estériles (8%), biopsia (4%), orina (4%) y otras (4%). El mayor número de pacientes con aislamientos resistentes provenía de los servicios médicos (36%), unidades de medicina intensiva (32%) y quirúrgicos (24%). En el 52% de los pacientes se encontraron patologías respiratorias de base como EPOC, Fibrosis Quística o Neumonía extrahospitalaria. Catorce pacientes (56%) estuvieron sometidos a procesos de intubación y/o ventilación mecánica prolongada previamente. El 52% de los pacientes revisados habían recibido tratamiento previo con carbapenemas antes del aislamiento (media, 13 días; rango 8-20 días).

Conclusiones: Es necesario mantener un sistema activo de vigilancia de la resistencia de *P. aeruginosa* a IMP, principalmente en los pacientes con patología respiratoria, intubados y en aquellos que han recibido tratamiento previo con IMP.

526 bis

PSEUDOMONAS AERUGINOSA RESISTENTE AL IMPENEM EN PACIENTES NO HOSPITALIZADOS EN UCI: EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO

C. Peña, M. Pujol, M.A. Domínguez, F. Tubau, F. Gudíol y J. Ariza

Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona.

Los aislamientos de *P. aeruginosa* resistentes al imipenem (PARI) son más frecuentes en pacientes hospitalizados en UCI, en el contexto de mayor consumo de imipenem; si bien, en los últimos años hemos observado un progresivo incremento de estos aislamientos en el resto del hospital.

Objetivo: Estudiar la epidemiología y factores de riesgo para la adquisición de PARI en los pacientes hospitalizados en unidades convencionales durante un período de 2 años.

Método: Estudio caso-control (1 caso/1 control).

Resultados: Durante el período de estudio fueron identificados 94 pacientes con aislamientos clínicos de PARI en diferentes áreas médico-quirúrgicas del hospital; 8 (9%) habían sido ingresados en UCI en los 6 meses previos. 52 pa-

cientos (55%) tuvieron infección y 42 (45%) colonización. Los 52 pacientes infectados presentaron un total de 54 episodios de infección: infección de localización quirúrgica (18), del tracto respiratorio (14), del tracto urinario (9), bacteriemia primaria (5), bacteriemia de catéter (2), infección de tejidos blandos (3), meningitis (2) y absceso hepático (1). La mortalidad relacionada fue del 10%. 36 (38%) de los aislamientos de PARI fueron también resistentes al meropenem y por estudio molecular (PFGE) fueron identificados múltiples clones. 30 pacientes (32%) habían recibido carbapenémicos previamente. Comparado con pacientes con aislamientos de *P. aeruginosa* sensibles al imipenem (PASI) durante el mismo período, observamos que el consumo total de antibióticos previos fue significativamente mayor en los pacientes con PARI que con PASI (80% vs 63%; $p < 0,01$), y hubo una asociación significativa con el uso de carbapenémicos previos (32% vs 5%; $p < 0,001$).

Conclusiones: Nuestro estudio muestra un sostenido aislamiento de cepas policlonales de *Pseudomonas aeruginosa* resistentes al imipenem en pacientes no hospitalizados en UCI. A pesar de la estrecha asociación entre *Pseudomonas aeruginosa* resistente al imipenem y consumo previo de carbapenémicos, dicha exposición solo explica un tercio de los aislamientos.

527

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y PRONÓSTICAS DE LOS PACIENTES CON INFECCIÓN POR *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*

M.D. del Toro, J. Rodríguez-Baño, A. Pascual, L. Martínez Martínez, M.A. Muniaín y R. Pérez Cano

Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Describir la clínica, la terapia y la mortalidad de la infección por *S. maltophilia* (Sm).

Métodos: Estudio prospectivo de pacientes infectados (criterios CDC) por Sm en nuestro centro entre enero-98 y enero-01 con descripción de las características clínicas y pronósticas.

Resultados: De 87 casos de adquisición de Sm, 45 presentaron criterios de infección (52%). 69% fueron de adquisición nosocomial. De 12 pacientes con neumonía (27%), 11 estaban en UCI y 10 en ventilación mecánica. 10/12 (83%) fallecieron, 6 relacionados con la infección. Se observaron 7 casos de bronquitis purulenta (15,5%). Todos habían recibido antibioterapia previa y ventilación mecánica. 7 pacientes se diagnosticaron de ITU (15,5%); 6/7 tenían patología urológica, 3 catéteres urinarios. 8 pacientes presentaron infección de heridas (18%); 2 infecciones quirúrgicas y 6 de úlceras crónicas. 6 pacientes fueron diagnosticados de infección intraabdominal (13%); 4 abscesos intraabdominales, 1 peritonitis secundaria, y 1 absceso perirrectal. Se detectaron 4 casos de bacteriemias (9%); todos habían recibido antibioterapia y eran portadores de catéteres venosos centrales; 2 fueron primarias y 2 asociadas a catéter. Hubo 1 caso (2%) de queratoconjuntivitis. Se manifestaron con fiebre un 31% de las infecciones, con sepsis un 23%, con shock un 18%, y sin síntomas sistémicos un 28%. 96% de los casos recibieron tratamiento antimicrobiano correcto, las heridas y abscesos evolucionaron bien con limpieza/drenaje y/o antibioterapia, el 33% de las ITU curaron con retirada de catéter. La mortalidad cruda de los pacientes que adquirieron *S. maltophilia* fue del 50,7%. La mortalidad atribuible en el grupo de infectados fue del 31,6%, y fue debida sólo a los casos de neumonía.

Conclusiones: Sm puede causar diversos tipos de infecciones, en su mayoría de adquisición nosocomial, en pacientes predispuestos, siendo las neumonías las más frecuentes y a la vez la de peor pronóstico. La retirada de dispositivos invasivos y limpieza/drenaje de heridas/abscesos es un factor importante para la curación de la infección.

528

ROTACIÓN CÍCLICA DE ANTIBIÓTICOS (RCA): IMPACTO SOBRE EL CONSUMO SEGÚN LA CLASE DE ANTIBIÓTICO

M. Pujol, M. Sora, F. Tubau, E. Fumero, F. Garrigosa, J. Ávila, P. Rodríguez, C. Peña, J. Ariza y F. Gudiol

Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet del Llobregat. Barcelona.

El elevado consumo de antibióticos es la causa principal del incremento de resistencias bacterianas en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCIs).

Objetivo: Determinar el cumplimiento y los efectos sobre el consumo de las diferentes clases de antibióticos, de una estrategia de RCA instaurada durante 1 año en las UCIs de nuestro hospital. (1.100 ingresos anuales).

Método: En febrero 2000, se inició una estrategia de RCA para el tratamiento empírico de las infecciones graves en las UCIs. Cada ciclo consistía en un período de 4 meses de un β -lactámico de amplio espectro y opcionalmente un aminoglicósido. El 1er ciclo (Feb-May 00): Piperacilina-Tazobactam (P-T), 2do ciclo (Jun-Sep 00): un carbapenémico (Carb) y 3er Ciclo (Oct-En 01) cefepime (Cef). Para los tratamiento dirigidos se aconsejó el uso de ATBs de espectro más limitado.

Resultados: La tabla muestra el consumo de β -lactámicos de amplio espectro (DDD/100 estancias UCI) durante los tres ciclos.

	P/T	Carb	Cef	Total
1er Ciclo	18,0	2,3	0,7	21
2do Ciclo	4,3	23,7	0	28
3er Ciclo	2,1	5,7	22,9	30,7

El cumplimiento fue del 85% para los ciclos P/T y Carb y del 74% para Cef.. En relación a 1999, se observó una disminución del consumo de β -lactámicos de amplio espectro (P/T+Carb+Cef) de 31,9 en 1999 a 26,6 en 2000 (DDD/100 estancias UCI), mientras que la ciprofloxacina, utilizada como tratamiento dirigido incrementó de 6,5 hasta 13,5 (DDD/100 estancias UCI) durante el mismo período.

Conclusiones: En nuestra experiencia, es posible un esquema de RCA con un elevado cumplimiento del mismo. Como se esperaba, se observó una disminución y diversificación del consumo de β -lactámicos durante la rotación cíclica.

529

EFEECTO DE UN MODELO ADAPTADO DE POLÍTICA ANTIBIÓTICA

J. López-Contreras, J.L. Barrio, M. Gurgui, A. Clopés*, R. Farré*, J. Ris y G. Vázquez-Mata

Departamento de Medicina Interna, Servicio de Farmacia*.

Objetivos: Valorar los efectos sobre el coste de un modelo adaptado de seguimiento para la utilización racional de los antibacterianos.

Metodología: *Ámbito:* Hospital terciario de 600 camas. Períodos (6 meses) Octubre-Marzo 1999-2000 (P1) y 2000-2001 (P2). *Intervención:* Septiembre 2000-actualidad. Relación diaria pacientes con antibióticos de uso restringido (AUR): amicacina, aztreonam, cefepime, ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona, clindamicina, cloranfenicol, gentamicina, imipenem, levofloxacina, meropenem, piperacilina-tazobactam, teicoplanina, tobramicina, vancomicina, sultamicilina y relación diaria de portadores o infectados por g. Multirresistentes: MRSA, Acinetobacter, BLEAS. Semanalmente, con Farmacia se detectan los pacientes con 2 o más antibacterianos y aquellos en tratamiento > 10 días (AUR y antibióticos no AUR). Se seleccionan los que la pauta confrontada con el diagnóstico, sugiere que pueda existir inadecuación. Todos son valorados por un médico de la Unidad de Infecciones (UI) en < 72 h. Además, un miembro de la UI acude al pase de visita de la U.C.I. (4 días/se-

mana) y otro del S. De Hematología (1 día/semana). Vistas auditoras: 122/semana. Porcentaje intervenciones correctoras: 30,1%. En los casos de discrepancia entre el consultor y el médico responsable, se acepta la pauta del médico responsable.

Resultados:

	Período 1 (6 meses)	Período 2 (6 meses)	Diferencial	p
Altas	17.374	19.184	+1810	
Estancia media	6,82 días	6,21 días	-0,61	
Peso	1,24	1,18	-0,06	
Antibacterianos	231.616.432 ptas	229.902.898 ptas	-12.579.417	< 0,01
AUR	108.072.574 ptas	98.593.098 ptas	-9.479.476	< 0,01

Conclusiones: El método de política antibiótica elegido y adaptado a nuestra Institución ha demostrado eficacia en contener la tendencia al incremento del gasto en antibacterianos. El efecto de la intervención tiene una repercusión también positiva sobre el uso general de los antibacterianos no restringidos.

530

VALORACIÓN DE UN PROTOCOLO DE REVISIÓN DE TRATAMIENTOS ANTIBIÓTICOS EN UN HOSPITAL COMARCAL

A. Gasós, M. Estelrich, J. Espinach y F. Pujol
Hospital Sant Joan de Déu. Martorel. Barcelona.

Objetivos: Racionalización del consumo de antibióticos en los pacientes hospitalizados, mediante la aplicación de un protocolo de revisión.

Material y métodos: Reunión de un grupo de trabajo multidisciplinario: Farmacia hospitalaria, Medicina interna, Microbiología clínica. Frecuencia: una vez a la semana un día prefijado. Revisión de los pacientes con tratamiento/s antibiótico/s aquel día. Emisión de un listado, por el S. de Farmacia, en el que constan: datos de los pacientes, localización, antibiótico, dosis, vía de administración, fecha de inicio del tratamiento antibiótico. Revisión de los cultivos que disponen los pacientes del listado, por el microbiólogo. Información del cuadro clínico de los pacientes por parte del S. de Medicina interna. Intervención notificada cuando se encuentra un tratamiento no adecuado a: duración, dosis, vía de administración, diagnóstico o resultados del laboratorio de microbiología.

Resultados: Año 1999: N° de pacientes ingresados (n): 4714. N° de tratamientos antibióticos (n): 2178. Media del cociente N° tratamientos antibióticos/N° de pacientes (DE): 0,425 (0,0907). N° de intervenciones notificadas(%): 86 (3,9%).

Año 2000: N° de pacientes ingresados(n): 5800. N° de tratamientos antibióticos (n): 1971. Media del cociente N° tratamientos antibióticos/N° de pacientes(DE): 0,36 (0,0842). N° de intervenciones notificadas (%): 127 (6,4%)

Conclusiones: En el período de un año ha aumentado, de forma significativa ($p < 0,001$) el número de intervenciones, a la par que ha disminuido el número de antibióticos administrados por paciente. La aplicación de un protocolo de revisión crítica de tratamientos antimicrobianos ha reducido su consumo.

531

EVOLUCIÓN DEL CONSUMO DE ANTIBIÓTICOS EN UN HOSPITAL TERCIARIO (1996-2000)

J. Cobo, M. Soler, C. Pueyo, B. Megía, J. Oliva, R. Cantón, S. Moreno, M. Anaya

Servicios de Farmacia Hospitalaria, Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivo: Conocer el impacto de la introducción de nuevos antibióticos en la evolución temporal del consumo de antibióticos en un hospital terciario. Durante los primeros años tras la comercialización, los nuevos fármacos parenterales

estuvieron sujetos a dispensación controlada (necesidad de cumplimentar un formulario sencillo).

Métodos: Registros de consumo de antibióticos (excluidos antifúngicos y antivíricos) del Servicio de Farmacia y cálculo de las dosis diarias definidas (DDD) por 100 estancias hospitalarias.

Resultados: El consumo global de antibióticos se incrementó un 10% entre 1996 y 1998, permaneciendo posteriormente estable en 90 DDD/100 estancias. Se observan importantes variaciones del consumo por familias de antibióticos. El empleo de penicilinas se incrementó de 35 a 44 DDD/100 estancias, fundamentalmente debido al aumento del consumo de amoxicilina-clavulánico (60%). El uso de carbapenemes aumentó de 0,9 a 2,2 DDD/100 estancias, mientras que el consumo de cefalosporinas se redujo de 18,5 a 10,8 DDD/100 estancias. Globalmente el consumo de beta-lactámicos apenas se modifica (de 54,5 a 57,4 DDD/100 estancias). Hubo variaciones importantes en los consumos de fluoroquinolonas (de 9,6 a 17,8 DDD/100 estancias) y aminoglucósidos (de 6,9 a 5,3 DDD/100 estancias). El empleo de los glicopéptidos se mantuvo estable. La suma de los consumos de teicoplanina, cefepima, piperazilina-tazobactam y meropenem representa sólo el 5% de las DDD de antibióticos en el hospital. Sin embargo, levofloxacino, introducido en 1999, representa ya aproximadamente el 10% de las DDD consumidas en el hospital en el año 2000.

Conclusiones: Encontramos profundos cambios en el perfil de antibióticos utilizados, sin incrementos importantes en consumo global. La dispensación controlada permite una introducción paulatina de la mayor parte de los nuevos antimicrobianos, con excepción de las modernas fluoroquinolonas.

532

CONSUMO DE ANTIMICROBIANOS EN UCI (1996-2000). IMPACTO DE LOS ANTIBIÓTICOS DE RECIENTE INTRODUCCIÓN

J. Insausti, F. Álvarez-Lerma, M.A. de la Cal, M. Palomar, P. Olaechea y Grupo ENVIN-UCI

Hospital de Navarra. Pamplona.

Objetivos: Evaluar el consumo de los antibióticos de más reciente introducción en UCI y su influencia en el consumo global considerando diferentes subgrupos terapéuticos.

Material y métodos: Estudio prospectivo y multicéntrico, desarrollado en el seno del Estudio Nacional de Vigilancia de Infección Nosocomial (ENVIN-UCI) e incluyendo todos los pacientes ingresados durante los períodos de estudio anuales desde 1996 hasta el 2000 (5 años). Se analizaron todas las indicaciones antibióticas, con especial seguimiento de los antimicrobianos de más reciente introducción: amoxicilina-clavulánico, claritromicina, levofloxacino, cefepime, teicoplanina, piperacilina-tazobactam y meropenem. También se recogieron las variaciones paralelas en el consumo de eritromicina, ciprofloxacino, cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, vancomicina e imipenem.

Resultados: Se evaluaron 8.114 atbs en 3.817 pacientes (1996), 2.485/1.121 (1997), 3.921/2.033 (1998), 5.798/2.663 (1999) y 5.430/2.562 (2000). Amoxicilina-clavulánico mostró incremento anual cte (%) desde 5,5 en 1996 hasta 9,5 en el 2000. Claritromicina pasó desde su inicial 0,1 en el 97 a 1,6 en el 2000 y en este mismo período el consumo global de macrólidos descendió 1,2%. Cefepime pasó de 0,2 en 1996 a 3,5 en el 2000 y en ese período se produjo una disminución global de cefalosporinas (3ª más 4ª generación) en 2,3%. Levofloxacino: 0,5 inicial (99) y un 1,7 (2000) con discreto aumento de quinolonas un 0,7% (reducción de ciprofloxacino). Teicoplanina pasó de 1,2 (96) a 2,9 (2000) y el uso de gluco-péptidos se incrementó sólo un 0,6% por reducción paralela de vancomicina. Piperacilina-tazobactam aumentó cte desde 3,1 (96) a 6,0 (2000). Meropenem pasó de 0,8 (96) a 1,8 (2000)

y el uso global de carbapenems se incrementó sólo un 0,4% (reducción paralela de imipenem).

Conclusiones: Es de señalar una reducción en el empleo global de cefalosporinas (3ª más 4ª generación) y macrólidos. También un consumo creciente de amoxicilina-clavulánico y piperacilina-tazobactam.

533

INDICACIONES Y FORMA DE USO DE LOS ANTIBIÓTICOS EN PACIENTES CRÍTICOS

R. Alcaraz, A. Campos, M. Palomar y J. Sacanell
SMI H. Vall D'Hebron, Barcelona.

Introducción: El consumo de antibióticos (ATB) es elevado en los pacientes (ptes) críticos. El correcto uso puede repercutir en el control de la aparición de resistencias.

Objetivo: Analizar la utilización de antibiótico en SMI de un hospital de referencia.

Material y métodos: Estudio prospectivo en Enero-Febrero del 2001 de las indicaciones (indic) de uso ATB en 83 ptes consecutivos, APACHE II 15,61, patologías base: médica (47,17%) y quirúrgica programada (57,83%), ninguno traumático ni coronario. Estancia media UCI 12,25 días. Cx urgente 20,48%. Mortalidad UCI 15,66%. Se documentó el tº de: 1) Infecc. según origen: comunitaria (IC), nosocomial extra-UCI (NEU), nosocomial intra-UCI (NIU) y 2) tipo de indic.: Profilaxis (P), Tº empírico (E), Tº dirigido (D).

Resultados: Se prescribieron 275 ATB (3,3/pte). 56 (20,3%) se iniciaron antes del ingreso en UCI. Los más frecuentes fueron: Amox-Clav. 32 (11,63%), Cefalosp. 2ª y 3ª G 24 (8,73%), Piper-Tz 23 (8,36%), Carbapen. 19 (6,91%), Cefalosp. 4ª G 19 (6,91%), Cotrimox. 18 (6,54%), Cefalosp. 1ª G 18 (6,54%), Amp. 17 (6,18%), Glicopép. 16 (5,82%) y Amk. 14 (5,09%). El tº fue P 49,6%, E 40,8% y D 9,6%. Para IC en el 29,8%, NIU 15,2% y NEU 28% y P en 26,9%. La indic. de ATB se acompañó de SIRS en 25,8%, sepsis severa en 34,1% y shock séptico en 21% de los casos. La prescripción se realizó durante la mañana en el 34,7% de las indic. y durante la guardia en el 65,3%. Se ajustaban al protocolo en el 75,3% y no se observaron diferencias entre la mañana y la guardia. El tº P no se ajustó sólo en el 16,13% mientras que en el tº E la discordancia aumentó hasta el 29,4%.

Conclusiones: La tasa de uso de ATB fue elevada. El Tº P predominó por el elevado nº de ptes quirúrgicos. Sólo el 15% de las indic. de tº correspondió a infec. NIU. > 50% de las infec. se manifestaron como sepsis severa/shock séptico. Mayor nº indic. en horas de guardia. Menor ajuste al protocolo en tº E. El uso de carbapen. y glicopép. no fue elevado.

534

FACTORES DE RIESGO PARA ANTIBIOTERAPIA EMPÍRICA INADECUADA EN PACIENTES QUE INGRESAN EN UCI POR SEPSIS

A. Barrero, J. Garnacho, J.L. García, C. Pérez, F.J. Jiménez y C. Ortiz

Servicio de Cuidados Críticos y Urgencias. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla.

La antibioterapia empírica inapropiada se asocia a una mayor mortalidad hospitalaria en los pacientes críticos sépticos. Nuestro objetivo fue evaluar aquellos factores relacionados con la administración de una antibioterapia empírica inapropiada en los pacientes que ingresaron en UCI por sepsis. **Método:** Estudio prospectivo de cohortes de 4 años de duración (1997-2000) en UCI médico-quirúrgica de 40 camas de un hospital de tercer nivel.

Todos los pacientes incluidos en el estudio cumplían criterios de sepsis a su ingreso en UCI. Se tuvieron en cuenta los he-

mocultivos obtenidos durante las primeras 48 horas en UCI y los cultivos de los distintos focos de infección. Se tomaron variables demográficas, APACHE II y mortalidad esperada, SOFA, foco clínico, documentación microbiológica, estancia y mortalidad en UCI y hospitalaria. El análisis estadístico univariante y multivariante se realizó mediante el paquete estadístico SPSS 10.0.

Resultados: 406 pacientes. Se consiguió documentación microbiológica en 270 (67%). La sepsis por gramnegativos fue la más frecuente (31,2%), seguida por la de grampositivos (17,6%), polimicrobiana (13,4%), fúngica (2,7%) y anaerobios (1,7%). La antibioterapia empírica fue adecuada en 224 casos (83%). Los microorganismos aislados en los pacientes con antibioterapia empírica inadecuada fueron: *Candida* spp. (13), *P. aeruginosa* (6), *E. coli* (5), *S. aureus* (4), *A. baumannii* (3), *S. pneumoniae* (3), *E. faecium* (2), *Staphylococcus* spp. (2) y otros (8). El análisis multivariante mostró que la existencia de infección fúngica (OR 87,2 CI 95% 10,1-750,6; p < 0,001), la administración de antibioterapia en el mes previo (OR 2,5 CI 95% 1,2-5,3; p = 0,02) y la presencia de bacteriemia (OR 2,7 CI 95% 1,3-5,7; p = 0,008) fueron factores predictivos independientes.

Conclusión: En los pacientes que ingresan en UCI por sepsis hay un mayor riesgo de elección de antibioterapia empírica inapropiada en los casos que exista bacteriemia, antibioterapia en el mes previo o se trate de una infección fúngica.

535

INFECCIÓN NOSOCOMIAL CAUSADA POR EL VIRUS PARAINFLUENZA TIPO 3 EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS

L. Folgueira, J.R. Otero, M. Lizasoain*, R. Delgado
*Servicios de Microbiología y *Enfermedades Infecciosas. Hospital 12 de Octubre. Madrid.*

El virus Parainfluenza tipo 3 (VPI3), que produce frecuentemente infección respiratoria en los niños, es además responsable de infecciones nosocomiales en pacientes adultos receptores de trasplante de médula ósea, con altas tasas de morbilidad y mortalidad.

Objetivos: Describimos un brote nosocomial causado por VPI3 que afectó a 9 pacientes hematológicos que no recibieron trasplante de médula ósea.

Pacientes y métodos: Durante un período de 2 meses se identificaron en el Servicio de Hematología 9 pacientes con sintomatología respiratoria, en los que se aisló mediante cultivo celular de muestras nasofaríngeas VPI3; se revisaron las historias clínicas de estos pacientes y se procedió a la secuenciación de una región hipervariable del gen F de VPI3 para identificar si los aislamientos virales de estos pacientes eran debidos a una única cepa. Además se secuenciaron 8 cepas de VPI3 procedentes de pacientes pediátricos aisladas durante el mismo período de tiempo.

Resultados: Cinco de los 9 pacientes presentaron un cuadro respiratorio de vías altas; de los 4 pacientes que cursaron con neumonía, 2 fallecieron. 7 pacientes presentaban neutropenia cuando se produjo la infección por VPI3, y todos llevaban hospitalizados al menos 13 días (media, 28 días) cuando comenzó la sintomatología. Seis de las 9 cepas aisladas en estos pacientes pudieron ser analizadas, presentando secuencias idénticas y relacionadas con una de las cepas del grupo control; las restantes 7 cepas de este grupo control presentaron 4 patrones diferentes.

Conclusiones: Una única cepa de VPI3 introducida en el Servicio de Hematología y transmitida nosocomialmente afectó a 9 pacientes, causando la muerte en el 50% de los que presentaron neumonía.

Este brote pone de manifiesto la atención que debe prestarse al control de las infecciones respiratorias nosocomiales en los pacientes hematológicos.