

Sesión 7 Enfermería en la infección nosocomial

136

DESARROLLO E IMPLANTACIÓN DE UN PROGRAMA DE VIGILANCIA Y CONTROL DE LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL

L. García, C. Lupión y N. Salas

Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Describir, desde el punto de vista de la enfermería de control de infecciones, el desarrollo y la implantación de un programas de vigilancia y control de la infección nosocomial en un hospital de tercer nivel, adaptado a las características y recursos del centro.

Métodos: Descripción del programa de vigilancia y control de infecciones nosocomiales en un hospital de tercer nivel de 1.000 camas en el que previamente la actividad básica consistía en la realización del EPINE. Evolución de las tareas en función de los recursos y prioridades.

Resultados: En 1997 se inició el programa, con la creación de un equipo de control multidisciplinar dependiente de la Comisión de Infecciones, que trabaja manteniendo presencia activa en las unidades de hospitalización. El programa se estructuró en actividades de vigilancia, control y formación. Se consideró prioritario el control de los brotes epidémicos causados por *Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina, dedicándose una enfermera a esta tarea. Se inició un amplio programa de formación continuada para todo el personal. Se realizó una vigilancia del uso de sondas urinarias y catéteres vasculares, y se implantó el sistema cerrado para sondajes urinarios. Se actualizaron y difundieron los protocolos de medidas universales, aislamientos, sondaje, catéteres, preparación para la cirugía, profilaxis antibiótica, prevención de la neumonía, limpieza y desinfección-esterilización. Se inició un programa de vigilancia de infección quirúrgica, al que se dedicó una enfermera. Se desarrolló la vigilancia ambiental, al que otra enfermera dedica parte de su trabajo. Se implantó la desinfección rutinaria de manos con soluciones alcohólicas. Finalmente se ha ampliado el programa a un hospital cercano dependiente.

Conclusiones: La implantación del programa de control de infecciones ha resultado un proceso complejo y dinámico, en el que los recursos disponibles y las necesidades prioritarias han ido marcando el orden de actuaciones.

137

IMPLANTACIÓN DE UN SISTEMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA DE LA INFECCIÓN NOSOCOMIAL. PAPEL DE ENFERMERÍA

A. Fernández, P. Martínez y C. López

Hospital do Meixoeiro. Vigo.

Objetivos. 1) Conocer la incidencia de infección nosocomial entre los pacientes ingresados en el servicio de Cirugía General, con especial atención a las infecciones de la herida quirúrgica. 2) Reducir el riesgo de infección nosocomial mediante la aplicación de un protocolo consensuado de atención a los pacientes que ingresan en el servicio de Cirugía General.

Métodos: En el año 1996 se diseñó un Sistema de Vigilancia Epidemiológica de la infección nosocomial con objeto de obtener datos fiables de la incidencia de infección nosoco-

mial en los pacientes del Servicio de Cirugía. La identificación de las infecciones se hizo durante la hospitalización y al alta. En la detección al alta participaron tres enfermeras del servicio que, a través del teléfono, contactaron con los pacientes que estuvieron ingresados menos de 6 días para identificar infecciones de la herida quirúrgica. Después de obtener estos primeros resultados se planteó realizar una intervención para reducir el riesgo de padecer una infección nosocomial entre los pacientes que acudían a nuestro servicio. Para ello se elaboró un protocolo de actuación que implicaba a todos aquellos profesionales que tenían contacto con el paciente.

Resultados: En el año 1996 se registró una incidencia de infección nosocomial de la H. Quirúrgica de un 12,9%, al alta se detectaron un 30,6% de estas infecciones. En el año 1997 los datos fueron de un 10,5% de infección nosocomial en H. Quirúrgica y un 20,3% de detección al alta, y en el año 1998, 9,5% de infección nosocomial en H. Quirúrgica y un 18,03% de detección al alta.

Conclusiones: 1) La detección al alta es fundamental en un Sistema de Vigilancia de la infección nosocomial, en la herida quirúrgica. 2) La aplicación de un protocolo de atención al paciente quirúrgico contribuye a la disminución de la incidencia de infección nosocomial. 3) El papel de enfermería dentro de este Sistema resultó una pieza clave tanto por los cuidados aplicados como por la participación activa en la recogida de datos.

137 bis

CARACTERÍSTICAS DE LOS AISLAMIENTOS DE PACIENTES INGRESADOS EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

C. Ferrer, M. Méndez-Aguirre, A. Allepuz, J. Rosselló y B. Almirante

Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: El aislamiento de pacientes hospitalizados constituye una de las medidas clásicas de los programas de vigilancia y control de la infección nosocomial.

Objetivo: Valorar las características de los aislamientos y el impacto que estos representan para el hospital.

Material y métodos: Entre el 22 de enero y el 29 de mayo del 2001 las enfermeras del equipo de control de la infección nosocomial registraron todos los aislamientos que se llevaron a cabo en los servicios del hospital. Durante dicho periodo se comprobaron las medidas de aislamiento una o dos veces por semana.

Resultados: En total se recogió información sobre 105 pacientes aislados. En el periodo de estudio hubo 9090 admisiones en el hospital, por lo que la incidencia de pacientes aislados fue del 11,5%. Únicamente el 3,8% de los aislamientos fue considerado inadecuado (aislamiento protector en 4 pacientes inmunodeprimidos). En las unidades de vigilancia intensiva se detectaron el 43,8% de los pacientes aislados y el resto en las unidades de hospitalización convencional. El 82,9% de los aislamientos fueron de contacto y el 17,1% por aire. La mediana de tiempo que los pacientes permanecieron aislados fue 12 días. Con respecto a los microorganismos que motivaron los aislamientos los más frecuentes fueron *Staphylococcus aureus* resistente a la cloxacilina en un 74,1%, *Mycobacterium tuberculosis* en un 17,2% y *Acinetobacter baumannii* en el 12,1%.

Conclusiones: Este estudio nos ha permitido cuantificar la carga que supone para el hospital y para algunos servicios en concreto el aislamiento de pacientes. La mayoría de los aislamientos que se han realizado durante este periodo de tiempo han sido adecuados. Hemos podido por primera vez evaluar en nuestro hospital las medidas de aislamiento, herramienta básica en la estrategia del control de la infección nosocomial.

138

INFECCIÓN HOSPITALARIA: UNA EXPERIENCIA DE FORMACIÓN DE POSTGRADO PARA ENFERMERAS

C. López, Ll. Torrens, M.J. Argerich y A. Hornero

Universidad de Barcelona. División de Ciencias de la Salud Escuela de Enfermería. Hosp. de Bellvitge.

Detectada en Cataluña la necesidad de enfermeras con formación específica en la vigilancia y control de la infección hospitalaria, se organizó desde el Depart. Enfermería de Salud Pública durante el curso 1990 el primer post-grado de "La enfermería en la Vigilancia y Control de la Infección hospitalaria". Se han realizado 7 cursos.

Objetivos: 1) Capacitar al personal de enfermería en la vigilancia y el control de la infección hospitalaria. 2) Dar respuesta a unas necesidades de formación específica. 3) Crear un espacio de intercambio de experiencias.

Material y métodos: Los cursos son anuales y se obtienen 15 créditos (150 horas) entre teoría, práctica y proyecto de investigación. Se imparten sesiones de 4 horas teóricas semanales, 60 horas de prácticas repartidas entre el laboratorio de microbiología y la unidad de control de la infección. Los contenidos están divididos en tres módulos: 1) Materias básicas: microbiología, recursos documentales, inmunología. 2) Sistemas de vigilancia, higiene, desinfección, esterilización y tipos mas frecuentes de infección. 3) Prácticas y tutorías del proyecto de investigación. La evaluación se realiza con un examen tipo test, la asistencia y la presentación oral y escrita de un proyecto de investigación.

Resultados: Han realizado el postgrado 235 enfermeras, que proceden de hospitales de diferente nivel asistencial y de diversas comarcas incluida la comunidad Balear. Se presentaron 64 proyectos de investigación, 17 con resultados. Un 11% están trabajando actualmente como enfermeras de control de infección. Evaluación del curso por parte de los estudiantes (*Puntuación. de 1-4*): Aspectos organizativos, 3.1. Metodología del curso 3.3. Objetivos 3.3. Profesorado 3.3.

Conclusiones: Los cursos de postgrado son una formula adecuada para capacitar al personal de enfermería. La capacitación específica facilita el acceso a plazas de enfermera de control de infección. Tras una etapa inicial expansiva, la oferta de formación debería adecuarse a las necesidades reales del sistema.

139

CONTROL DE LA CALIDAD DE LA LIMPIEZA EN UN HOSPITAL DE III NIVEL. ELABORACIÓN DE ESTÁNDARESLl. Torrens, M.J. Argerich, T. Vidal, M. Sendra y J. Ariza
Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge. L'Hospitalet. Barcelona.

Introducción. Desde 1992, nuestro hospital sufre una endemia por *A. baumannii*. Debido a la importancia de la contaminación ambiental en la epidemiología de estas infecciones, se hicieron repetidas tentativas de implementar el programa de limpieza en los últimos años. A pesar de ello, no se consiguió un servicio acorde con las necesidades de nuestro centro.

Objetivos. Determinar de una manera objetiva el grado de limpieza de nuestra institución. Validar los indicadores y estándares establecidos. Utilizar dicha información como una herramienta de corrección del proceso.

Material y métodos. Se dividió el hospital en 3 zonas, en función del riesgo epidemiológico: a) Alto riesgo (Quir, UCIs, unidades especiales, etc.), b) Medio riesgo (hospitalización, consultas ext., servicios centrales, etc.), c) Bajo riesgo (despachos, pasillos etc.). El estudio incluyó las zonas de alto y medio riesgo. Se diseñaron unos indicadores específicos para cada una de las áreas. Se elaboró una hoja de recogida de da-

tos con 40 ítems, ponderados como de alto o bajo riesgo epidemiológico, con los que se determinó un porcentaje de limpieza para cada evaluación. Todas las áreas contaron con su protocolo de limpieza. Se fijó un estándar mínimo del 90% para las zonas de alto riesgo y del 80% para las de riesgo medio. Las evaluaciones se hicieron quincenalmente, por las Enf. de control de Inf. y supervisión.

Resultados: Entre abril y oct. de 2001 se efectuaron 13 evaluaciones. Ninguna de las áreas alcanzó el estándar establecido. Los porcentajes obtenidos fueron fluctuantes en las diversas áreas; cuando se alcanzaba el estándar en unas áreas, frecuentemente dejaba de alcanzarse en otras.

Conclusiones: El sistema permitió disponer de una información objetiva, utilizada de forma comparativa en el tiempo. Los indicadores y estándares establecidos se mostraron apropiados para proporcionar la información deseada. Esta monitorización objetiva sirvió como elemento de presión para requerir de la empresa responsable un mejor cumplimiento del programa y planificar de forma más adecuada las necesidades del hospital.

140

DEPENDE DE TÍ, ESTÁ EN TUS MANOS!R. García-Penche y M.J. García
Hospital Sagrat Cor. Barcelona.

Introducción: En el mes de junio de 1999 en nuestro hospital se realizó una campaña de lavado de manos y uso correcto de guantes, evaluando su impacto a través de una encuesta y cultivo de manos a enfermería de hospitalización.

Objetivo: Valorar si los conceptos explicados en la campaña quedaron claros para emprender medidas correctoras.

Material y método: Para conseguir el objetivo se elaboró un cuestionario con doce preguntas evaluando el lavado de manos y el uso correcto de guantes. Se pasó un total de 451 cuestionarios, de los cuales contestaron 272. El tratamiento estadístico fue mediante el programa SPSS.

Resultados:

| Higiene antes de... | siempre | casi siempre | a veces | nunca |
|-------------------------|---------|--------------|---------|-------|
| Iniciar la jornada | 64% | 23% | 7% | 5% |
| Colocarse guantes | 27% | 35% | 33% | 5% |
| Manipular líquidos org. | 47% | 27% | 21% | 4% |
| Entre procedimientos | 85% | 13% | 1% | - |
| Aspirar secreciones | 4,3% | 70% | 23% | 2% |

El 63% cree que los guantes son para protegerse a ellos y al paciente, 32% sólo al paciente y 4,6% para evitar el contacto. Se realizaron un total de 33 cultivos post-formación: 8 < UFC, 3 = 100 UFC y 22 > 100 UFC, los gérmenes más significativos fueron: *S. aureus*: 4 MARSAs, *Pseudomonas* spp 2 y *Acinetobacter baumannii* 1. La queja generalizada fue la falta de jabón y guantes para el personal sanitario en cada habitación y la falta de jabón. No hay diferencias entre auxiliares y enfermeras

Conclusiones: El personal tiene claro el tipo de lavado de manos y uso correcto de guantes. A destacar los cultivos realizados, que demostraron que no han sido demasiado sinceros en sus respuestas. Finalmente afirmar que han quedado satisfechos y desean más campañas.

141

ELABORACIÓN DE UN SET DE HIGIENE DEL PACIENTE PREQUIRÚRGICOM. Brugués, M. Sánchez y N. Ollé
Fundació Sanitària d'Igualada. Barcelona.

Objetivos: Disminuir el riesgo séptico procedente del campo preoperatorio o de su entorno, logrando que la zona de in-

cisión quirúrgica esté totalmente limpia de microorganismos, suciedad y grasa dérmica, de manera que la incisión se realice con el mínimo peligro de infección.

Material y métodos: Se organizó un grupo de trabajo formado por enfermeras y auxiliares de los diferentes turnos implicados en la preparación prequirúrgica del paciente. Se actualizaron conceptos y se consensuó la elaboración de una bolsa transparente con autocierre en la que se incluían los siguientes elementos: 2 sobres monodosis de jabón de clorhexidrina, 1 sobre monodosis de antiséptico bucal, 2 esponjas sin jabón incorporado, 1 bata tipo hospitalario, así como una nota explicativa dirigida al paciente sobre la utilización de los diferentes elementos que contenía la bolsa.

El personal de la unidad entrega el set al paciente la noche anterior a la intervención, facilitando las explicaciones necesarias y aclarando las posibles dudas sobre su utilización. Por la mañana se revisa la correcta realización del procedimiento anterior y se refuerza la información relativa a la higiene matinal.

Resultados: La utilización del set permite una mejor preparación de la piel perioperatoria, disminuyendo la flora transitoria y residente y por tanto, el riesgo de infección procedente del proceso quirúrgico.

Conclusiones: La información e implicación del personal asistencial y del propio paciente en una correcta higiene preoperatoria - a través de la elaboración de un set específico - ha representado un elemento positivo y facilitador que ha reforzado la correcta atención prequirúrgica de la piel del enfermo.

142

METODOLOGÍA Y FUNCIÓN DE LAS ENFERMERAS HIGIENISTAS EN EL ESTUDIO DE LA INFECCIÓN DE HERIDA EN CIRUGÍA

M. Vaqué¹, M. Calsina¹, T. Rodríguez¹, J. Borrás², J. Martínez³ y M. Sierra⁴

Hospital de Barcelona. SCIAS. ¹Enfermería. ²Cirugía. ³Medicina Interna. ⁴Microbiología.

Objetivo: Describir el método de detección de infección de herida quirúrgica (HQ), en cirugía limpia utilizado en el Hospital de Barcelona así como la función de las enfermeras higienistas en dicho estudio.

Material y métodos: Desde el año 97 se realizan dos estudios anuales en los que se incluyen todos los pacientes intervenidos de cirugía limpia durante un período de cuatro semanas. Los criterios de infección de herida empleados son los del CDC.

El estudio forma parte del plan de trabajo anual del Comité de infecciones del hospital para la vigilancia y prevención de la infección nosocomial. Dos enfermeras higienistas efectúan la recogida de datos de los pacientes, el control de la herida durante la hospitalización y el seguimiento telefónico mediante una encuesta predeterminada durante las cuatro semanas siguientes a la cirugía. Participan en las visitas a las que se citan a los pacientes con criterios de infección de herida detectados telefónicamente y en la recogida de muestras para cultivo, junto con el cirujano coordinador del estudio.

Resultados: Los diez períodos analizados desde 1997 hasta el año 2001, acumulan 4.000 casos y se han realizado 16.000 llamadas telefónicas aproximadamente. Se han visitado en el hospital después del alta 31 pacientes. La tasa media de infección de HQ en cirugía limpia es del 2,1%.

Conclusión: Consideramos el método utilizado válido y muy útil para monitorizar nuestra tasa de infección de herida en cirugía limpia.

La experiencia obtenida por los participantes del estudio ha supuesto agilización y optimización de aspectos relacionados con la metodología.

143

INVESTIGACIÓN DE UN BROTE DE ENDOFTALMITIS EN CIRUGÍA AMBULATORIA DE CATARATAS

C. Ferrer, M. Méndez-Aguirre, A. Allepuz, A.M. Planes, J. Rosselló, B. Almirante y X. Martínez

Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

Introducción: En junio del 2001 se comunicó al equipo de control de la infección nosocomial la existencia de un número superior al esperado de casos de endoftalmitis tras cirugía de cataratas.

Objetivo: Determinar las posibles causas del brote.

Material y métodos: 1) La información de los pacientes se obtuvo de la revisión de las hojas de recogida de datos confeccionadas por el servicio de Oftalmología. 2) Se llevó a cabo una observación directa de algunos de los pacientes que iban a ser intervenidos de cataratas, desde que entraban al área quirúrgica (zona de preanestesia), hasta la finalización del acto quirúrgico. 3) Se tomaron muestras para su estudio microbiológico de los colirios, líquidos conservadores de las lentes, humor vítreo, acuoso y antisépticos empleados.

Resultados: Entre el 1 de abril y el 31 de octubre del 2001 se diagnosticaron 17 episodios de endoftalmitis en 1673 enfermos intervenidos de forma ambulatoria por cataratas. Esta incidencia del 10,1% es claramente superior a la esperada para este procedimiento. Etiológicamente, 3 episodios fueron causados por *Staphylococcus plasmocoagulasa* negativa y 1 por *Streptococcus pneumoniae*. En la investigación epidemiológica se detectaron diversos incumplimientos en las normas de precaución estándar, sobre todo en el período de preanestesia. Todos los cultivos ambientales resultaron negativos, excepto una muestra de antiséptico de la que se aisló *Bacillus circulans*. La actuación del equipo de control de la infección nosocomial consistió en reforzar las medidas de asepsia e informar de la situación a todo el personal asistencial implicado.

Conclusiones: En el presente brote epidémico no ha podido establecerse un foco común de infección, no pudiendo descartarse una etiología no infecciosa en algunos casos. La investigación epidemiológica permitió mejorar las medidas de asepsia, observándose una disminución en la incidencia de endoftalmitis en el último mes de seguimiento.

144

REPERCUSIÓN DEL MRSA EN UN HOSPITAL DE AGUDOS

N. Freixas, J.M. Nava, M. Riera, M. Xercavins y J. Garau
Hospital Mútua de Terrassa. Barcelona.

Introducción: Hospital de 480 camas que genera 23.817 ingresos, con una estancia media de 5,9 días. El aumento de pacientes con MRSA del ámbito extrahospitalario y la situación endémica del hospital, supone un incremento de recursos.

Objetivos: 1) Determinar su procedencia. 2) Conocer la rentabilidad de la búsqueda de MRSA al ingreso en pacientes de riesgo. 3) Cuantificar las estancias hospitalarias en régimen de aislamiento generadas por los pacientes con MRSA.

Método: Período del estudio del 1.10.2000 al 1.10.2001. La detección de nuevos casos se realizó mediante cultivo nasal, perineal, úlceras y otras muestras al ingreso de pacientes de riesgo procedentes de otro hospital o centros sociosanitarios (CS), y búsqueda de casos secundarios entre los pacientes que comparten habitación con casos nuevos. Identificación de casos conocidos mediante un código de alerta en el programa informático del hospital. Todos los pacientes con MRSA son sometidos a medidas de aislamiento en una unidad específica.

Resultados: 1) Total casos nuevos hospital 91: nosocomiales 33 (9 casos asociados a 4 brotes), CS 42, atención primaria y/o consulta externa 13, y de otros hospitales 3. Ingresos de casos ya conocidos 19 (3 reingresos del propio hospital y 16 de CS). 2) De los 693 pacientes considerados de riesgo al in-

greso se detectaron 45 portadores (6,5%). 3) Se generaron 1869 estancias con medidas de aislamiento (1,3% del total de las estancias). Los casos nuevos supusieron 1497 estancias en la unidad asistencial y 88 en UCI. Los ingresos de casos previamente conocidos supusieron 284 estancias.

Conclusiones: La epidemia de MRSA afecta a todos los ámbitos sanitarios: atención primaria, hospitalario y CS. La mayoría de los casos nuevos (46%) proceden de CS. A pesar de las medidas de detección y aislamiento de los pacientes colonizados se han producido nuevos casos nosocomiales. Estos resultados indican la conveniencia de reexaminar la política de despistaje y de aislamiento. También sugieren que el control del MRSA debe extenderse a los CS.

145

EVALUACIÓN DE UN MÉTODO DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE LA RESISTENCIA A METICILINA EN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

R. Miguel, R. de Frutos, F. Romero, M.J. de Grado, A. Azofra, J. Valverde y A. Delgado-Iribarren

Microbiología. Fundación Hospital de Alcorcón. Madrid.

Objetivos: evaluar la detección de resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus* mediante una prueba rápida de aglutinación de partículas de látex (Slidex MRSA Detection, bioMérieux) que detecta la proteína PBP2', frente a métodos convencionales de difusión disco-placa y de microdilución.

Métodos: Fueron estudiados 70 aislados de *S. aureus* que provenían de muestras clínicas: 21 de heridas o úlceras superficiales, 11 de exudados del tracto respiratorio superior y 11 del inferior, 10 de orina, 7 de sangre, 4 de catéter, 4 de abscesos, 1 de LCR y 1 de líquido articular. La resistencia a meticilina se estudió mediante Slidex MRSA siguiendo las instrucciones del fabricante, difusión en agar (disco-placa, Kirby Bauer) con incubación y lectura a las 24 y 48 horas y por paneles MicroScan Combo Pos 2A (MicroScan Walkaway Dade Behring).

Resultados: se estudiaron 38 aislados resistentes a meticilina y 31 sensibles por los métodos convencionales (difusión y microdilución) más un aislado que presentó sensibilidad intermedia mediante difusión en agar (11mm) y una CMI de 2, siendo negativa la aglutinación al látex, que no se consideró en la evaluación del método. El látex clasificó correctamente 37 de los 38 aislados resistentes y los 31 sensibles (eficiencia global del 98,5%), presentando una sensibilidad del 97,4%, una especificidad del 100%, un valor predictivo positivo del 100% y un valor predictivo negativo del 96,9%.

Conclusiones: La importancia de las infecciones por *S. aureus* resistentes a meticilina cada vez es mayor y la instauración precoz de un tratamiento antimicrobiano apropiado es primordial en infecciones graves. El método estudiado presenta muy buena sensibilidad y una excelente especificidad, con la gran ventaja de obtener resultados en menos de 15 minutos y ser un método sencillo al alcance de todo tipo de laboratorios.

146

IMPORTANCIA DEL CRIBAJE DE PORTADORES NASALES DE MRSA EN EL PERSONAL SANITARIO SUPLENTE DE LAS UCIs

M.J. Argerich, J. Pares, Ll. Torrens, T. Vidal, M. Sendra, A. Hornero, M. Juárez y M. Pujol

Unidad de Control de Infección. Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet. Barcelona.

El control de los brotes epidémicos por MRSA se basa en la detección y aislamiento de pacientes colonizados/infectados y

en la detección de portadores asintomáticos entre el personal sanitario. Durante los períodos vacacionales es imprescindible suplir parte del personal sanitario de enfermería de las UCIs. En los meses de verano el porcentaje de suplencias que se precisa es elevado. Dicho personal puede haber trabajado en otros centros hospitalarios, ser portador asintomático y responsable de la introducción del MRSA en estas unidades, donde los pacientes tienen elevado riesgo de colonizarse/infectarse.

Objetivo: 1) Determinar la importancia de la colonización nasal por MRSA en el personal sanitario suplente de verano y 2) Prevenir la aparición de nuevos casos mediante la descontaminación de los portadores nasales.

Resultados: Durante el período vacacional (julio-agosto de 2001) se incorporaron a las UCIs/REA 45 suplentes de enfermería (diplomadas y auxiliares entre los turnos de día y noche), a las que se les practicó un frotis nasal al inicio de su incorporación laboral. En 4 de las 45 suplentes (9%), se detectó colonización nasal por MRSA, en un caso con alta resistencia a la mupirocina. En 3 casos se inició descontaminación con mupirocina nasal (3 veces/día durante 5 días) y en el caso de resistencia a mupirocina con cotrimoxazol oral (7 días) y ácido fusídico en pomada nasal (5 días). El frotis nasal de control posterior al tratamiento fue negativo en todos los casos.

Conclusiones: En áreas geográficas con una elevada incidencia de MRSA es importante el "screening" de portadores entre el personal sanitario que se incorpora a trabajar en las Unidades de Paciente Crítico. Dicho control se tiene que practicar de forma protocolizada en el momento de la contratación, previo a la incorporación laboral. Es preciso valorar el impacto de esta medida en otras áreas del hospital.

147

CONTROL Y SEGUIMIENTO DE UN BROTE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILIN-RESISTENTE EN UN SERVICIO DE NEFROLOGÍA

M. Galindo, Z. Domínguez, L. García, J. Sánchez, A. Ojeda y C. Lupión

Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivo: Describir los resultados de un plan de control de un brote de SARM en un servicio de Nefrología con un seguimiento de dos años.

Método: Entre julio y noviembre de 1999 aparecieron 6 casos de infección por SARM en el Servicio de Nefrología de nuestro centro. Por ello se puso en marcha un programa de control, que incluyó detección activa de pacientes y personal sanitario colonizados, mediante cultivo de frotis nasal, y medidas de precauciones de contacto de los pacientes colonizados ó infectados.

Resultados: Se estudiaron 52 pacientes, de los cuales 5 resultaron colonizados por *Staphylococcus aureus* sensible a meticilina y 3 con SARM. Estos tres fueron descolonizados con mupirocina nasal, con éxito. Uno de ellos provenía del Centro Periférico de Hemodiálisis (extrahospitalario), por lo que se amplió el programa a dicho centro, en el que se estudiaron 71 pacientes, detectándose 4 colonizados por SARM, que también fueron descolonizados. Se encontró un sanitario colonizado por SARM, que fue descolonizado. Para la realización de aislamientos de contacto fueron necesarias algunas reformas arquitectónicas. Posteriormente no apareció ningún nuevo caso de infección por SARM. De noviembre de 1999 a junio de 2001 se han realizado semestralmente cultivos de vigilancia a personal y pacientes.

Conclusiones: La aplicación de un protocolo estándar de control de SARM resultó efectivo, demostrándose que las medidas adoptadas fueron eficaces, ya que desaparecieron los casos de infección por SARM. La aparición del brote provocó que se realizaran reformas arquitectónicas en la unidad

para poder realizar aislamiento de pacientes y realizar limpiezas terminales, así como la ubicación de monitores específicos para las sesiones de diálisis de pacientes ingresados en unidades de cuidados intensivos.

148

ACINETOBACTER BAUMANNII Y STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILIN-RESISTENTE: EPIDEMIOLOGÍA Y MEDIDAS DE CONTROL EN UN HOSPITAL DE MEDIA Y LARGA ESTANCIA

N. Salas, L. García, C. Lupión, J.M. Sánchez Gil y A. García Nieto

Hospital de San Lázaro, Área Hospitalaria Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivo: Describir la epidemiología y las medidas de control de las infecciones/colonizaciones por *A. baumannii* multirresistente (ABMR) y *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) en un hospital pequeño de media y larga estancia dependiente de un hospital de tercer nivel.

Métodos: En enero-2001 se inició la vigilancia prospectiva de todos los pacientes con aislamiento en muestras clínicas de ABMR y SARM en un hospital de 150 camas en algunos pacientes médicos son pacientes de media y larga estancia procedentes de un hospital de tercer nivel. Se inició un programa de control (aislamiento de contacto de los pacientes, protocolo de limpieza, cultivos de vigilancia de pacientes procedentes del hospital de referencia y formación para el personal sanitario).

Resultados: Entre enero y octubre de 2001, se detectaron 35 casos nuevos de colonización ó infección por ABMR (incidencia: 0,84 casos por 100 ingresos) y 17 por MRSA (incidencia: 0,41). La práctica totalidad de los casos se originaron en las áreas médicas (incidencia: 2,55 y 1,36, respectivamente). Mediante vigilancia activa, 13 pacientes trasladados desde el centro de referencia se detectaron como colonizados al ingreso. Hubo 9 reingresos. Edad media de los pacientes: 77 años. La mayoría tenían enfermedades crónicas de base. MRSA se aisló principalmente de úlceras de decúbito (46%) y ABMR de úlceras de decúbito (56%) y orinas (21%). Hubo 1 bacteriemia por SARM y 2 por ABMR.

Conclusiones: Para el control de los brotes de ABMR y SARM en este centro parece imprescindible la detección activa de los pacientes colonizados que ingresen procedentes del hospital de referencia y de los reingresos. Debido a las características de nuestros pacientes, los pacientes con úlceras de decúbito colonizadas y sondas urinarias parecen tener gran importancia como reservorio y foco para la transmisión. Debe realizarse estudio de sanitarios colonizados en las alas médicas.

149

BROTE DE A. BAUMANNII EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS: MEDIDAS ADOPTADAS Y REPERCUSIONES ASISTENCIALES

M. Canals, E. Hernández, J. Valles, G. Serrate, D. Mariscal, D. Machado y F. Segura

Corporació Parc Taulí. Sabadell. Barcelona.

El 20 de agosto de 2001 se detectó un paciente con AB en una unidad de cuidados intensivos con 16 camas médico quirúrgicas que ocasionó un brote epidémico.

Objetivos: Analizar las medidas de control utilizadas y evaluar su eficacia.

Material: 1) Se instauraron medidas de aislamiento específicas para AB y se cultivaron los contactos del primer caso. 2) Ante un segundo caso se estableció aislamiento por cohortes y cultivos de vigilancia semanales a todos los pacien-

tes relacionados con el brote tanto en UCI como en salas de hospitalización. 3) Se estableció el uso sistemático de bata y guantes en los nuevos ingresos. 4) Se establecieron dos salas de hospitalización de referencia (médica y quirúrgica) para transferir a los pacientes dados de alta de UCI. 5) Se reforzó la dotación de personal de enfermería para asegurar las medidas de aislamiento y se incrementó la frecuencia de la limpieza.

Resultados: En el primer mes del brote fueron apareciendo nuevos casos hasta un total de 11 pacientes con AB. El total de ingresos en este período fue de 69 pacientes lo que representó una tasa de colonización del 15,9%. La baja ocupación de la UCI (50%) en el día en que apareció el caso nº 11 permitió diferenciar una zona limpia con profesionales y utillaje exclusivo para nuevos ingresos. Posteriormente no se ha detectado ningún otro caso. Durante el período se evaluaron a 110 pacientes y se procesaron 980 muestras clínicas y 310 ambientales (2,3 millones pts.) con una positividad del 10,4% y 0,5%, respectivamente. Se requirieron 239 días de aislamiento en las salas de hospitalización (23,9 días/pac) lo que comportó una pérdida de 35 altas hospitalarias (estancia media 6,7 días). El incremento de personal supuso un coste adicional 7 millones de pesetas.

Conclusiones: Las medidas de vigilancia, prevención y control han permitido la erradicación del brote y han evitado su diseminación a las Unidades de hospitalización, precisando, sin embargo, para ello un incremento temporal de los recursos.

150

ROL DE LA ENFERMERA DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL EN UN BROTE POR PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRRESISTENTE (PAMR)

M.F. Domenech, C. Gombau, M.O. Pérez, J. Rebull y J. Luna
Hospital de Tortosa Verge de La Cinta. Tarragona.

Introducción: A raíz del incremento del número de casos de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente (PAMR), se procedió a realizar un estudio para valorar los factores de riesgo, determinar posibles hipótesis causales y considerar si, además del preceptivo aislamiento de contacto de los pacientes con PAMR, era aconsejable instaurar medidas de control adicionales.

Metodología: *Diseño del estudio:* Estudio epidemiológico observacional, longitudinal y descriptivo y tipificación molecular. *Sujetos de estudio:* Pacientes con cultivo positivo a *P. aeruginosa* con patrón de multirresistencia a todos los antibióticos, excepto a colimicina y, en algunos casos, amikamicina, desde enero a septiembre de 2001. *Ámbito de estudio:* Hospital de 250 camas que atiende a una población de 135.000 habitantes. *Variables estudiadas:* Edad, sexo, distribución temporo-espacial, ingresos previos, duración del ingreso, cultivos ambientales de zonas de posible riesgo y tipificación molecular de cepas mediante electroforesis en campo pulsátil (PFGE) del DNA bacteriano.

Resultados: casos: 28 pacientes, el 82,4% eran varones, con edad media de 74 años, Distribución espacial global en el centro destacando: cirugía (25%), medicina interna (25%), traumatología (25%). Distribución temporal: mayor incidencia en marzo (5 casos) y mayo (6 casos). El 64% tenían antecedentes de ingresos previos. Duración media del ingreso (32,9 días). Una de las 62 muestras ambientales recogidas, localizada en el desagüe del lavamanos de una habitación de la unidad de cirugía, resultó positiva a PAMR. El patrón de la cepa ambiental, obtenido por PFGE, fue idéntico al que presentaban las cepas procedentes de cinco pacientes, cuatro de los cuales habían estado ingresados en cirugía.

Conclusiones: Aunque en el estudio epidemiológico la distribución espacial no nos facilitó la localización del foco, la realización de cultivos ambientales y posterior tipificación, como aconsejan otros autores, fue determinante para la identificación del brote e instaurar medidas de control.

151

VIGILANCIA DE LA BACTERIEMIA POR INFECCIÓN DE CATÉTER VENOSO CENTRAL (CVC) EN LAS UNIDADES DE HOSPITALIZACIÓN

T. Vidal, I. Grau, A. Argerich, M. Sendra, C. Peña, M. Pujol y J. Ariza

Unidad de Control de Infección. Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet. Barcelona.

En el marco del programa de Vigilancia de la Infección Nosocomial en los Hospitales del Institut Català de la Salut (VICNS), se inició en el año 2.000 un seguimiento de los pacientes hospitalizados que presentaban bacteriemia por infección de CVC (excluidos los de Nutrición Total Parenteral) en áreas de pacientes no críticos, con el objetivo de establecer la incidencia de dichas infecciones.

Material y métodos: Seguimiento diario a través de una reunión con el Servicio de Microbiología y de un protocolo informatizado, de todos los episodios de bacteriemia por infección de CVC. Se definió bacteriemia de catéter aquellos episodios con uno o más hemocultivos positivos y con cultivo de la punta u otro segmento del catéter positivo para el mismo germen, sin otro foco aparente. Selección de los casos que reunían las características de inclusión (CVC, no UCI, no NTP).

Resultados: Durante el período Marzo-Sept 2000 se detectaron 49 episodios que reunían los criterios de inclusión, con una tasa de incidencia de 0,29 episodios por 1.000 estancias hospitalarias. La localización de los catéteres fue: 18/49 (37%) por subclavia, 4/49 (8%) por yugular, 13/49 (26%) por catéter central femoral y 14/49 (28%) por CVC de inserción periférica. *S. aureus* fue responsable de 17 episodios (35%), seguido por SCN: 15 (31%), 13 (26%) por bacilos gram negativos y 2 (4%) por candidas.

Conclusión: La bacteriemia por infección de CVC fuera de la UCIs es una infección frecuente en nuestro centro. Además de establecer los programas de prevención adecuados es imprescindible disponer de un estándar comparativo con otros centros de características similares de forma parecida a los estándares de las UCIs.

152

EFICACIA DE UN PROTOCOLO DE CUIDADOS EN LA REDUCCIÓN DE COMPLICACIONES POR CATÉTERES INTRAVASCULARES

A. Cazalla, C. Sánchez, J.C. Gómez, J. Borrero, M. Lancha, M. Polo y S. López

Unidad Clínica de E. Infecciosas. HH UU Virgen del Rocío. Sevilla.

Los protocolos de cuidados (PC) pueden contribuir a disminuir las complicaciones asociadas a catéteres vasculares (CV), una causa frecuente de morbilidad en pacientes hospitalizados.

Objetivo: 1) Conocer las características de utilización de CV; 2) evaluar la frecuencia de complicaciones y factores relacionados con las mismas, tras la implantación de un protocolo de cuidados.

Método: Estudio prospectivo (del 11/11/00 al 15/03/01) de 187 CV canalizados en 118 ingresos de 110 pacientes (82 hombres y 28 mujeres), 38% VIH, en un servicio de E. Infecciosas (EI). Se realizó una toma de muestras protocolizada para descartar infección. Diagnósticos: a) bacteriemia por catéter (BC): cultivo de catéter (Maki) y hemocultivos positivos; b) infección local (ILC): "Maki" positivo y hemocultivo negativo; c) flebitis no infecciosa (FNI): cordón palpable o dolor y eritema con cultivos negativos.

Resultados: La cateterización se realizó en: EI 85%, urgencias 7,5%, UCI 1,2% y otras plantas 6,4%. Se utilizó para fluidoterapia/medicación (99,5%). Tipo de CV: periférico 72,2%, drum 16,6%, central de una luz 10,7%; se usó bioconector en 28,9%. Se retiró por sospecha de infección en 58 casos; se rea-

lizaron estudios microbiológicos en 53. Complicaciones infecciosas: 1 BC por *S. epidermidis*; 3 ILC (2 estafilococos coagulasa negativo y 1 *Corynebacterium sp*) y 1 bacteriemia no asociada a catéter. Se diagnosticó FNI en 42 casos (25,3% de CV periféricos y/o drum): 35 periféricos y 7 drum. En el análisis univariado que incluyó sexo, edad, VIH, tipo, localización y duración del catéter, bioconector, cateterización previa y fármacos flebotóxicos, sólo la inserción del catéter fuera del servicio se relacionó con FNI (RR IC 95% 2,39 1,01-5,69).

Conclusiones: La utilización sistemática del PC explica la baja frecuencia de complicaciones infecciosas detectadas en nuestro servicio. La FNI se presenta en catéteres periféricos y/o drum, fundamentalmente en aquellos que han sido canalizados fuera de nuestro servicio.

153

INEFICACIA DE LOS CURSOS DE FORMACIÓN PARA DISMINUIR LA INCIDENCIA DE COMPLICACIONES INFECCIOSAS DE LOS CATÉTERES VENOSOS CENTRALES

V. Acebrón, M. de Górgolas, P. Tomás, R. Fernández Roblas, J.J. Granizo y M.L. Fernández Guerrero

Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Objetivos: Conocer la eficacia de los cursos de formación de control de la infección nosocomial sobre la incidencia de complicaciones infecciosas asociadas a los CVC.

Método: Se realizaron dos estudios prospectivos de 10 semanas de duración, separados dos años durante los que se impartieron dos cursos teóricos de formación del personal de enfermería (113 asistentes), haciendo especial hincapié en el manejo y cuidado de los CVC.

Resultados: Se estudiaron un total de 608 CVC repartidos en dos estudios: pre-intervención (315) y post-intervención (293). La edad media de los pacientes, sexo, enfermedades de base, así como la utilización y el tiempo de permanencia de los CVC en ambos grupos fue similar. La incidencia global de complicaciones infecciosas asociadas al CVC (bacteriemia, fiebre e infección local) en ambos estudios fue similar: a) uso convencional (7,7% vs 7,0%); b) monitorización (11,4% vs 9,6%); c) uso exclusivo para nutrición parenteral (24,3% vs 28,1%); y d) usos varios además de nutrición parenteral (20,8% vs 25,0%).

Conclusiones: Para disminuir la incidencia de complicaciones infecciosas asociadas a los CVC, en particular cuando se emplean para nutrición parenteral, no son suficientes los cursos de formación dirigidos exclusivamente al personal de enfermería. Posiblemente otras medidas como impartir los cursos a facultativos, emplear catéteres impregnados con antimicrobianos o antisépticos, así como disponer de personal dedicado exclusivamente al cuidado de los CVC puedan tener una mayor eficacia.

154

DESCRIPCIÓN DE DOS BROTES EPIDÉMICOS DE ENTERITIS POR *C. DIFFICILE*

A. Cotura, M.L. Gálvez, J.L. Barrio, T. Llovet, J. López-Contreras, J.M. de Llobet, B. Mirelis y M. Gurgui

H. Sant Pau. Barcelona.

Objetivo: Presentación de dos brotes epidémicos nosocomiales de enteritis por *C. difficile* y de las medidas establecidas para su control y posterior prevención de nuevos brotes.

Descripción: Se agruparon 8 pacientes con cuadro diarreico nosocomial en el servicio de M.I. en enero de 1999, y 11 enfermos en una misma sala, que incluía P. Digestiva y C. Vascular, en febrero y marzo del mismo año. El diagnóstico se realizó por detección de toxina A de *C. difficile* en heces mediante técnica de enzimo-inmunoanálisis. Todos eran ma-

yores de 65 años y habían recibido antibióticos, con predominio de las cefalosporinas y clindamicina. Todos ellos respondieron al tratamiento con metronidazol.

En ambos brotes se realizó aislamiento cutáneo, individual en el primero y de cohorte en el segundo. En éste se realizó un estudio de toxinas de portadores asintomáticos de todos los enfermos de la sala, sin detectar otros casos positivos. Una vez controlados ambos brotes, se realizó una limpieza y desinfección exhaustiva de toda la sala.

Desde entonces se ha seguido un programa de prevención basado en: 1) Medidas de aislamiento estándar ante cualquier paciente con diarreas o reingreso de un paciente con infección previa por *C. difficile*. 2) Aviso inmediato a la Unidad de Enfermedades Infecciosas ante la detección de una toxina positiva con establecimiento de un aislamiento cutáneo individual ante cada caso. 3) Medidas de limpieza y desinfección estándar de la habitación donde se realizaba el aislamiento. 4) Revisión de las pautas de tratamiento con disminución del uso de cefalosporinas y clindamicina.

Con estas medidas no se ha detectado ningún nuevo brote epidémico en nuestro Centro.

Conclusiones: 1) El aislamiento cutáneo, incluso de cohorte, es un buen método para el control de los brotes epidémicos. 2) La terapia con metronidazol es efectiva en la enteritis por *C. difficile*. 3) El establecimiento de un programa de alerta y el control de la política de antibióticos ha impedido la aparición de nuevos brotes.

155

TUBERCULOSIS Y ADHERENCIA AL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA LATENTE (TITL) EN EL PERSONAL SANITARIO (PS)

M. Riera, X. Martínez Lacasa, N. Freixas, E. Cuchi, J. Tost y J. Garau

Hospital Mutua Terrassa. Barcelona.

Introducción: En los centros sanitarios existe un riesgo potencial de transmisión de tuberculosis al PS, a partir de enfermos con tuberculosis pulmonar o laríngea no diagnosticados o en proceso de diagnóstico, especialmente bacilíferos.

Objetivos: 1) Establecer la incidencia de infección tuberculosa entre el PS. 2) Determinar el número de convertidores 3) Conocer indicación y adherencia a la (TITL). 4) Describir los casos de tuberculosis entre el PS.

Método: Estudio prospectivo desde 1985 a noviembre de 2001. Se realizan prueba tuberculínica (PT) anual al PS que trabaja en Unidad de Enfermedades Infecciosas, servicio de Urgencias, Bronscopias, Toxicomanías y personas expuestas a enfermos bacilíferos sin medidas de aislamiento. Se considera positiva una induración de ≥ 5 mm en no vacunados y ≥ 15 mm entre los vacunados. La indicación y seguimiento de la profilaxis se hace en la consulta de TBC.

Resultados: Se estudiaron 901 PS a lo largo de este período, 219 (24,5%) mostraron una PT positiva. Se detectaron 46 convertidores a la PT, de los cuales se indicó TITL en 45 casos (1 caso con úlcus gástrico activo se desestimó). 32/45 casos (69%) iniciaron TITL, 28 han finalizado, 3 en curso y 1 se suspendió por toxicidad. Los 13 restantes no iniciaron TITL por decisión propia. Hubo un total de 9 casos de TBC entre el PS. De estos: 4 no tenían PT previa, 4 tenían PT previa negativa y 1 caso vacunado BCG tenía PT positiva (11 mm). 2/9 (22%) PS con TBC y PT previa negativa siguieron negativos en el momento del diagnóstico. En todos los casos de TBC se completó el tratamiento según esquema clásico entre 6 a 9 meses con curación clínica y microbiológica.

Conclusiones: Solamente el 69% del PS (convertidores) con indicación de TITL hicieron profilaxis. La causa principal fue el rechazo voluntario. Parece necesario implementar programas de información con objeto de mejorar el cumplimiento del TITL entre el PS. La realización de PT periódica tiene limitaciones a la hora de despistar los casos de infección y/o enfermedad TBC.

156

COSTE ECONÓMICO DE LA REESTERILIZACIÓN CON ÓXIDO DE ETILENO DEL MATERIAL DE UN SOLO USO

J. Romans, J. Font, L. Gavaldà y D. García

Hospital Universitario de Girona Doctor Josep Trueta.

Objetivo: Detectar el material no tributario de esterilización con OE. Estimar si el coste de la esterilización del material de un solo uso es inferior al del mismo.

Métodos: El estudio se llevó a cabo en el Hospital Universitario de Girona Doctor Josep Trueta de 430 camas y con central de esterilización propia. Durante el mes de febrero de 1998 se registró todo el material esterilizado con OE, así como su servicio de procedencia, el grado de asepsia requerido (esterilización o desinfección) y si se trataba de material de un solo uso o reutilizable. Para el material de un solo uso se estimó el coste de su reesterilización teniendo en cuenta el tiempo de lavado, el tamaño de la bolsa, el tipo de embolsado (doble o simple) y el coste proporcional del OE. Este coste se comparó con el precio unitario. En este trabajo se presentan los costes de reesterilización del material de un solo uso procedente del área quirúrgica y de la UCI, por tratarse de los servicios con mayor volumen de material remitido.

Conclusiones: 1) Más de 1/4 parte del material enviado a reesterilizar con OE requería únicamente desinfección. 2) El 78% del material que requería esterilidad era de un solo uso. 3) El 48,6% del material de un solo uso procedente del área quirúrgica presentó un coste de reesterilización superior al precio unitario de compra. 4) Por consenso con la dirección del hospital se acordó que todo el material con un coste de reesterilización superior al precio de compra fuera eliminado una vez utilizado. 5) Para el material de endoscopia y laparoscopia se analizaron alternativas de compra con precios unitarios menores o reutilizables conjuntamente con el personal de éstas áreas y previo acuerdo con la dirección.

Sesión 8

Resistencia en gram positivos

157

EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS RÁPIDOS PARA LA DETECCIÓN DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS METICILIN-RESISTENTES

M. Soares, C. Soares, A. Mendes, M. Amorim, J. Cabeda y J. Amorim

Hospital Geral de Santo António. Microbiología. Porto.

Objetivos: La identificación rápida de *S. aureus* meticilín-resistentes (MRSA) es de suma y reconocida importancia en el control de las infecciones nosocomiales. El propósito de este estudio es evaluar tres tests rápidos de detección de los MRSA y compararlos con la detección del gen *mecA* por PCR.

Material y métodos: Un total de 103 estirpes de *S. aureus* aisladas a partir de varios especímenes clínicos y identificadas por Sistema Vitek (Biomerieux) se estudiaron por los siguientes métodos: test de aglutinación en látex MRSA-Screen (Innogenetics), BBL Crystal MRSA ID System (Becton Dickinson), Velogene Genomic ID Assay for MRSA (Alexon-Trend) y, amplificación del gen *mecA* por un ensayo de PCR desarrollado "in house".

Resultados: Se encontraron 61 estirpes resistentes a la meticilina. De estas apenas una estirpe dio un resultado dudoso por el método de aglutinación. Las restantes 42 estirpes se clasificaron como sensibles a la meticilina.

Tomando como referencia la presencia del gen *mecA* por PCR, los métodos BBL Crystal MRSA ID System y Velogene Genomic ID Assay for MRSA presentan una sensibilidad del 100%, mientras que para el test de aglutinación ésta fue del 98%. La especificidad de los tres métodos fue del 100%.

Conclusiones: La correlación entre los tres métodos rápidos y la detección del gen *mecA* por PCR, nos permite utilizarlos como tests de screening en la detección rápida de los MRSA. No obstante, a pesar de la mejor sensibilidad de los métodos restantes, la rapidez y facilidad de ejecución del método de aglutinación son características importantes en la elección como método de rutina para el screening de los MRSA.

158

FIABILIDAD DEL SISTEMA VITEK 2 PARA DETECTAR RESISTENCIA A METICILINA Y A OTROS ANTIBIÓTICOS EN *S. AUREUS*

E. Simarro, M.D. Navarro, F.E. Fornés, E. Serra, J. Pérez, J.A. Herrero y J. Ruiz

Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia.

Objetivo: Estudiar la fiabilidad del sistema Vitek 2 (BioMérieux) para detectar resistencias de *S. aureus* a meticilina y a otros 4 antibióticos de los que se usan como alternativa terapéutica.

Métodos: Se estudió la sensibilidad de 100 cepas de *S. aureus* por el sistema comercial Vitek 2. Los resultados de vancomicina, teicoplanina, cotrimoxazol y rifampicina se compararon con el método disco-placa recomendado por el NCCLS (2001). Los resultados de meticilina se compararon con el método de difusión en agar con disco de oxacilina (1 µg) y con el método de las placas de cribado con oxacilina (6 µg/ml). Las cepas utilizadas, nosocomiales y ambulatorias, procedían en parte de nuestra colección y en parte de aislados recientes, con objeto de conseguir una muestra homogénea de diferentes épocas. Como cepas controles se utilizaron *S. aureus* ATCC 29213 y *S. aureus* ATCC 33591.

Resultados: De las 100 cepas estudiadas, 61 fueron resistentes a meticilina por el método de cribado, coincidiendo en todos los casos los resultados por el sistema Vitek 2. Por el método disco-placa se encontró 1 cepa discrepante, con 2 colonias en el halo de inhibición del disco de oxacilina y otra, cuya resistencia se detectó por la presencia de velo.

Los resultados de vancomicina, teicoplanina y cotrimoxazol, coincidieron en todos los casos por ambos métodos, destacando 7 cepas con CMI de 2 µg/ml para vancomicina y 2 con igual CMI para teicoplanina. Rifampicina, presentó discrepancias en 35 cepas (error leve), 34 calificadas como intermedias por Vitek 2 y sensibles por disco-placa y 1 como resistente e intermedia por ambos métodos respectivamente.

Conclusiones: 1) El sistema Vitek 2 es altamente fiable para detectar la resistencia a meticilina. 2) Los resultados para cotrimoxazol, vancomicina y teicoplanina son igualmente excelentes. 3) Con rifampicina se detectaron errores menores por Vitek 2 respecto al de disco-placa, por lo que sería razonable una comparación con el método de referencia de dilución.

159

ESTUDIO DE DOS KITS COMERCIALES PARA LA DETECCIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* RESISTENTE A LA METICILINA (MRSA)

A. García, A. Rivera, C. Roig, F. Cuadrado y F. Sánchez
Servei de Microbiologia, Hospital de Sant Pau. Barcelona.

Objetivos: Evaluar dos nuevos kits comerciales "MRSA Detection Kit" y "Slidex MRSA Detection" para determinar especificidad y sensibilidad en la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

Métodos: Se han evaluado 35 cepas de *S. aureus* hetero y homoresistentes a oxacilina junto con estafilococos coagulasa

negativa, todos ellos procedentes de pacientes ingresados en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en el periodo comprendido entre 1999-2001. Las cepas de *S. aureus* fueron confirmadas como MRSA a través de PCR para el gen *mecA* (responsable de la resistencia a la meticilina) y *nuc* (específico de *S. aureus*). "MRSA Detection Kit" detecta el gen *nuc* y el *mecA* a través de sondas marcadas con fosfatasa alcalina, y el segundo, "Slidex MRSA Detection" se basa en la detección de la PBP2a (producto del gen *mecA* y responsable de la resistencia) a través de anticuerpos monoclonales específicos.

Resultados: La sensibilidad y especificidad de los dos kits fue del 100%. "MRSA Detection Kit" tiene la ventaja de hacer una identificación del microorganismo diferenciando *S. aureus* de estafilococos coagulasa negativa, a la vez que detecta la presencia del gen *mecA* en ambos grupos. El tiempo medio requerido para su realización fue de 3 horas 30 minutos. Sin embargo, "Slidex MRSA Detection" es específico para la detección de la resistencia a la meticilina sólo en *S. aureus*; pero tiene la ventaja de ser uno de los kits más rápidos en la detección de ésta, ya que en tan sólo 15 minutos se obtienen resultados.

Conclusión: Ambos kits tienen una excelente sensibilidad y especificidad, lo que los convierte en una buena alternativa para la detección de MRSA frente a las técnicas basadas en caracteres fenotípicos (que en ocasiones son poco sensibles).

160

STAPHYLOCOCCUS AUREUS vs PENICILINA Y AMPICILINA EN PANELES CONVENCIONALES MICROSCAN

J.A. Lepe, J.H. García-Vela, F.J. Guerrero y A. Garrido
Hospital General de Riotinto. Huelva.

Objetivo: Comunicar la falta de correlación entre la CMI a Penicilina y Ampicilina obtenida en paneles COMBO GP 1S y 1SA con la cepa control de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 cuando se utiliza un inóculo preparado mediante el sistema PROMT.

Material y métodos: Se inocularon durante 30 días consecutivos paneles COMBO GP 1S y 1SA (Dade Behring) con la cepa control ATCC 29213 (Culti-Loops-OXOID). Los paneles se inocularon de forma doble mediante el sistema PROMPT y la técnica de turbidez con un inóculo 0,5 MacFarland e incubados durante 18-24 horas. Los inóculos fueron verificados mediante recuento en placa de agar sangre. La CMI del aislado fue realizada además mediante un sistema alternativo: E-test. Los valores propuestos por el NCLSS para la cepa control deben oscilar entre 0,25 y 2 mcg/ml.

Resultados: 1) CMI mediante sistema PROMT: penicilina: > 8 mcg/ml, Ampicilina: > 8 mcg/ml en todos los paneles analizados. 2) CMI mediante turbidez: Penicilina: 1 mcg/ml, Ampicilina: 1 mcg/ml en todos los paneles analizados. 3) CMI mediante E-test: Ampicilina: 1,5 mcg/ml, Penicilina: 1 mcg/ml. Los recuentos de colonias arrojaron en el caso del sistema PROMPT recuentos superiores a 10⁶ UFC/ml y de 10⁵ UFC/ml para el método de turbidez.

Conclusiones: La CMI de la Penicilina y Ampicilina está muy afectada por la sobreinoculación producida por el sistema PROMPT, de forma que no se debería recomendar este tipo de inoculación para el estudio de los *Staphylococcus aureus* provenientes de muestras clínicas.

161

RESISTENCIA A METICILINA EN BACTERIEMIAS POR *S. AUREUS* ADQUIRIDAS EN LA COMUNIDAD

J. Losa, J. Valverde, R. Barba, A. Delgado, A. Espinosa y V. Castilla
Fundación Hospital de Alcorcón. Madrid.

Objetivos: Analizar la resistencia a meticilina en bacteriemias comunitarias por *S. aureus*.

Métodos: Se valoraron todos los episodios comunitarios de bacteriemia por *S. aureus* desde 03/1998 hasta 10/2001. En cada episodio se estudiaron factores demográficos y microbiológicos, foco clínico, comorbilidades, antecedentes de antibioterapia y evolución.

Resultados: Se consideraron 73 episodios. La edad media de los pacientes fue 66 años, el 52% fueron mujeres y el 30% vivían en residencia. La prevalencia de resistencia a meticilina fue del 22% y la mortalidad global del 30%. La edad media de los pacientes con *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) fue mayor que la de aquellos con *S. aureus* sensible a meticilina (SASM) (79 vs 62 años, $p = 0,009$). En un 41% de los pacientes institucionalizados se aisló SARM frente a un 14% en la población no institucionalizada ($p = 0,01$). La presencia de diabetes mellitus y demencia se asoció con una mayor frecuencia de SARM (47% vs 14%, $p = 0,004$; 45% vs 12%, $p = 0,001$). La prevalencia de SARM en los pacientes que habían recibido antimicrobianos en el mes anterior fue de un 56% frente a un 12% de los pacientes sin este antecedente ($p < 0,000$). La resistencia a meticilina no se asoció a una mortalidad mayor ni a una estancia mayor (38% vs 28%, $p = 0,76$; 13 vs 15 días, $p = 0,71$). Sin embargo la edad sí fue significativamente mayor en los pacientes que fallecieron (76 vs 63 años, $p = 0,026$). En un análisis de regresión múltiple las variables que se asociaron de forma independiente a la presencia de SARM fueron la edad (OR 1,1 IC95% 1,06-1,1; $p = 0,01$), el antecedente de diabetes (OR 8,3 IC95% 1,7-39,8; $p = 0,007$) y el uso previo de antimicrobianos (OR 12,2 IC95% 2-56; $p = 0,001$).

Conclusiones: Los principales factores asociados a resistencia a meticilina en bacteriemias comunitarias por *S. aureus* fueron la edad avanzada, la diabetes mellitus y la antibioterapia previa. La elevada mortalidad se relacionó con la edad avanzada pero no con la resistencia a meticilina.

162

RESISTENCIA A MUPIROCINA EN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: FRECUENCIA, EPIDEMIOLOGÍA Y MECANISMOS DE RESISTENCIA

M. Domínguez, P. Loker, N. Fernández, F. Tubau, C. Peña, J. Liñares y R. Martín

Ciutat Sanitària i Universitària de Bellvitge (CSUB). L'Hospitalet. Barcelona.

Mupirocina (Mup) es uno de los agentes tópicos más efectivos para erradicar la colonización nasal por *S. aureus*. El frecuente uso de Mup, puede llevar al desarrollo de resistencia (RMup) por mutaciones en el gen nativo *ileS* o por adquisición de un gen plasmídico *MupA* (*ileS-2*).

Objetivos: 1) Establecer la prevalencia de RMup en la CSUB en el periodo enero 1999-septiembre 2001, entre las cepas de *S. aureus* aisladas en frotis nasales. 2) Determinar el fenotipo y el mecanismo de resistencia a Mup. 3) Analizar los clones bacterianos implicados.

Métodos: Durante el periodo de estudio se obtuvieron 2.335 aislamientos nasales de *S. aureus*. La sensibilidad antibiótica fue estudiada por disco-difusión a 14 antibióticos y se aplicaron los puntos de corte del NCCLS. La RMup fue confirmada por E-test y PCR del gen *MupA*. El estudio genotípico se realizó mediante electroforesis en campo pulsado (ECP) utilizando *SmaI*.

Resultados: En 1999, la RMup fue del 1,8% (13/743) y la resistencia a meticilina (RMet) del 11,8% (88/743); en 2000, la RMup fue del 2,3% (21/926) y la RMet del 14,8% (137/926) y en 2001, la RMup fue del 1,2% (8/666) y la RMet del 13,7% (91/666). En 33 de las 42 cepas RMup, se comprobó la RMup mediante PCR y se estudió el genotipo por ECP. La RMup fue de bajo nivel (4-256 µg/mL) en 4 cepas y en todas ellas la PCR del gen *mupA* fue negativa, en 29 cepas la RMup fue de alto nivel (> 1024 µg/mL) y todas presentaron PCR positiva. De los 33 aislamientos: 22 fueron *S. aureus* sensibles a meticilina (SASM) y pertenecían a 19 genotipos distintos, las 11 cepas restantes fueron resistentes a meticilina (SARM) y pertenecían a 3 genotipos.

Conclusiones: La RMup es muy baja en nuestro medio (< 2%), quizás es debido a que su uso está restringido a pacientes de determinadas áreas hospitalarias. La mayoría de las cepas expresan RMup de alto nivel. No se ha encontrado asociación clonal entre las cepas de SASM resistentes a Mup, mientras que en SARM la RMup aparece en los clones endémicos en nuestro medio.

163

ESTUDIO DE LA RESISTENCIA A MUPIROCINA EN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* METICILIN-RESISTENTES EN DOS CENTROS SANITARIOS

C. Potel, C. López-Meléndez, M. Álvarez, I. Otero y F. Alonso-Lambert

Hospital Xeral-Cies y Clínica Fátima, Vigo.

Objetivos: Determinar la incidencia de la resistencia a la mupirocina en nuestro medio de 1996-2000, y si esta resistencia es debida a la presencia del gen *MupA*.

Materiales y métodos: Se estudiaron 93 cepas de SARM procedentes de diferentes pacientes pertenecientes a dos centros sanitarios de Vigo. La homología genética fue analizada mediante REP-PCR. Los consumos de mupirocina se obtuvieron de los Servicios de Farmacia Hospitalaria.

La resistencia a la mupirocina se detectó mediante el método de difusión con disco de 5 µg. En los aislamientos resistentes por este método se determinó le CMI por dilución en Mueller-Hinton agar. La detección del gen *MupA* se realizó mediante PCR, empleando los primers Mup1 y Mup 2 que corresponden a los lugares de restricción de *Nco I* en el gen.

Resultados: Solamente una cepa de SARM aislada en el año 98 en el Hospital Xeral, presentó una resistencia de bajo nivel a la mupirocina (CMI = 16 mg/l). No se amplificó el gen *MupA* de esta cepa. No se detectó ningún aislamiento con resistencia de alto nivel a la mupirocina (CMI > 256 mg/l).

Conclusiones: Al contrario que en otros hospitales españoles y europeos, la resistencia a mupirocina es baja (0,9%). La causa podría ser el limitado empleo de este antimicrobiano en ambos centros sanitarios (< 6 g/año).

El bajo nivel de resistencia a la mupirocina detectada en una única cepa no fue debido a la presencia del gen *MupA* en el cromosoma ya que no se amplifica mediante PCR, la causa sería por una serie de mutaciones puntuales en el gen *ileS*. En nuestro medio no sería necesario el estudio rutinario de la sensibilidad a mupirocina.

164

PREVALENCIA DE *S. AUREUS* CON RESISTENCIA INTERMEDIA A LOS GLICOPÉPTIDOS (GISA) EN UN HOSPITAL UNIVERSITARIO

C. García de la Mària, F. Marco, J.M. Miró, Y. Armero, N. de Benito, M.E. Díaz, A. del Río, X. Claramonte, M. Almela, A. Moreno, J.M. Gatell y M.T. Jiménez de Anta

Hospital Clínic Universitari. Instituto de Immunología. Barcelona.

Objetivos: La incidencia de SARM con resistencia intermedia homogénea a los glicopéptidos (GISA) es muy baja, siendo más frecuente el aislamiento de cepas con resistencia heterogénea (hGISA). En los estudios publicados hasta ahora, su prevalencia es muy variable, debido a la ausencia de una metodología estandarizada para detectarlas. El objetivo del estudio fue determinar la incidencia de GISA o hGISA en un hospital universitario con endemia por SARM.

Métodos: Se analizaron todas las cepas consecutivas de SARM aisladas en pacientes con bacteriemia ($n = 98$) desde 1997 hasta 2000 y en los pacientes ingresados en la sala de nefrología ($n = 27$), UCIs ($n = 259$) o diagnosticados con endocarditis por SARM ($n = 16$) en el periodo 1990-2000. Se utilizaron como controles las cepas Mu50 (GISA) y Mu3 (hGISA). Para su detección se utilizó una modificación del

método descrito por Hiramatsu et al y el análisis poblacional (AP). En aquellas cepas SARM que mostraron heterorresistencia se determinó sus CIMs para la vancomicina (VAN) y la teicoplanina por los métodos de microdilución (NCCLS), agar dilución (NCCLS) y E-test.

Resultados: Del total de cepas estudiadas (n = 400), 68 (17%) crecieron en presencia de 4 mcg/mL de VAN. Los AP detectaron 10 cepas con subpoblaciones que crecieron a concentraciones de VAN \geq 6 mcg/mL (2,5%) y 2 de ellas (0,5%) en presencia de VAN \geq 8 mcg/mL. Se observó una mayor prevalencia al utilizar el sistema de E-test con la metodología propuesta por la casa comercial (10%). No se han detectado cepas homogéneas.

Conclusiones: La prevalencia de hGISA en nuestro centro osciló entre un 0,5 % a un 10% según la metodología empleada.

165

DISMINUCIÓN DE LA INVASIVIDAD EN *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* RESISTENTE A PENICILINA

L. Moreno-Núñez, R. Barba, A. Delgado-Iribarren, J.E. Losa, A. Espinosa, J. Valverde y V. Castilla

Fundación Hospital de Alcorcón. M. Interna. Alcorcón, Madrid.

Objetivo: Comprobar la relación existente entre la disminución de la sensibilidad a la penicilina en aislamientos clínicos de *Streptococcus pneumoniae* y la disminución de la capacidad invasora.

Métodos: Se analizaron todos los aislamientos de *Streptococcus pneumoniae* desde la apertura del hospital en marzo del 98 hasta octubre del 2001. Se consideraron resistentes los aislamientos con una CMI \geq 2 μ g/DL, y sensibilidad intermedia entre 0,1-2. Se consideró enfermedad invasora aquella en la que el aislamiento se produjo en líquidos corporales habitualmente estériles (sangre, líquido ascítico, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo).

Resultados: De los 228 aislamientos, 118 (51,3%) fueron sensibles, y 110 (48,7%) presentaron algún nivel de resistencia (72 con sensibilidad intermedia). El 34,6% de los aislamientos se hicieron en líquidos estériles, mientras que el resto se aislaron en muestras respiratorias, conjuntivales, nasales o en oído. Los neumococos sensibles causaron infección invasora en más ocasiones que los resistentes (37 vs 24%; p = 0,03). No hubo diferencias en la mortalidad en ambos grupos (12% vs 8%; p = 0,3). Cuando se consideraron sólo los aislamientos en muestras estériles, no se encontró relación entre el nivel de resistencia y el sexo, los antecedentes de inmunosupresión, cardiopatía, neuropatía, o proceso oncológico. Los pacientes con antecedentes de diabetes y los que habían tomado antibióticos el mes previo presentaron un riesgo superior de tener un neumococo resistente, aunque no llegó a alcanzar la significación estadística (19,7% vs 6,7%, p = 0,09), (9,7% vs 2,2%; p = 0,1). La única variable que se asoció con la presencia de neumococos resistentes fue la edad menor de 5 años (75% de los aislamientos en menores de 5 años fueron resistentes, frente a un 36% en los mayores de 5 años).

Conclusiones: La disminución de la sensibilidad a penicilina se asocia a una menor capacidad invasora.

166

RESISTENCIA ANTIMICROBIANA Y SEROTIPOS DE *S. PNEUMONIAE*: EVOLUCIÓN DE AISLADOS BACTERIÉMICOS (1989-2001)

A. Fleites, I. Cahue, P. Venero, G. Sierra, M. Hidalgo*, J. Rodríguez** y M.J. Santos

Servicio de Microbiología. Hospital Central, Oviedo.

*H. Jove y **H.S. Agustín, Asturias.

Objetivos: En 1989 se inició el seguimiento de la resistencia antimicrobiana y los serotipos de *S. pneumoniae*, en

nuestro laboratorio. Analizamos los datos y sus posibles tendencias evolutivas en el período jul/1989-jul/2001.

Métodos: Se estudió la sensibilidad por difusión con disco de oxacilina y microdilución (NCCLS M7-A5) a penicilina (P), amoxicilina (A), cefotaxima (CTX), eritromicina (E), clindamicina (CL), cloranfenicol (C), tetraciclina (T), cotrimoxazol (SXT), ciprofloxacina (CI) y vancomicina (V). El serotipado se realizó en el ISC III. Se usó el X2 como test comparativo.

Resultados: Se analizaron 341 aislados en sangre de pacientes adultos (250 varones y 91 mujeres). Los diagnósticos, protocolizados, fueron: neumonía bacteriémica 254, sepsis no neumónica 61 y 26 no se han determinado. 329 (96,5%) cepas fueron serotipadas. Los serotipos/grupos más frecuentes (%) fueron: 3 (19,1), 14 (10,6), 9 (9,1), 4 (7,5), 19 (7,5), 8 (7,5), 6 (6,3) y 23 (4,8); representando el 72,9% del total. El 95,6% se encuentra incluido en la vacuna 23 valente. Las resistencias globales (%) fueron P 30,8 (22,5 MR y 8,2 R), CTX 14,0 (12,9 MR), E 13,0, CL 12,5, C 16,9, T 30,0, SXT 35,7, CI 1,8 y V 0. Los aislados con resistencia a P fueron 84,4% y 54,2% sensibles a A y CTX respectivamente. Los perfiles fenotípicos más frecuentes fueron: P-SXT (11,6%) y P-SXT-T-C (5,0%). Se detectó multirresistencia en el 56,2% de las cepas no sensibles a P. Las tendencias más significativas (%) entre los períodos 1989-1994 (n = 193) y 1995-2001 (n = 148) fueron: aumento de resistencia a eritromicina 7,4 vs 20,2 (p = 0,0005), descenso de resistencia a C 21,8 vs 10,8 (p = 0,0077), disminución de resistencia a T 32,9 vs 26,3 (p = 0,1884), disminución del serotipo 23, 6,6 vs 2,7 (p = 0,09) y aumento de la frecuencia del serotipo 4, 4,9 vs 10,8 (p = 0,0468). La resistencia a P se mantiene sin cambios significativos entre los dos períodos: 29,5% vs 32,4% (p = 0,5655).

Conclusiones: La tendencia, en nuestra región, es muy similar a la descrita para el conjunto del país y otras comunidades autónomas.

167

CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA DE RESISTENCIA A MACRÓLIDOS EN *S. PYOGENES* Y *S. PNEUMONIAE* EN MALLORCA

E. Padilla, N. Borrell, P. Ballesteros y P. Alomar

Laboratorio de Microbiología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca.

Objetivos: Conocer la situación de la resistencia a macrólidos en *S. pyogenes* y *S. pneumoniae* en nuestra área, determinar los fenotipos de resistencia y comprobar la presencia de los genes *mef A/E* (fenotipo M) y *ermB* (fenotipo MLS) mediante PCR en un grupo de cepas representativas, recuperadas de muestras clínicas entre 1997-2001.

Material y métodos: Se ha estudiado el fenotipo de un total de 69 *S. pyogenes* y 111 *S. pneumoniae* mediante la técnica de doble difusión con discos de eritromicina y clindamicina (AAC 1993;32:885-891). Se han determinado los genotipos de todos los *S. pyogenes* resistentes a macrólidos y de 9 cepas de *S. pneumoniae* por PCR.

Resultados: La resistencia a la eritromicina fue del 39% para *S. pyogenes* y del 29,7% para *S. pneumoniae*.

Entre las 27 cepas de *S. pyogenes* resistentes a macrólidos se observaron 3 fenotipos de resistencia: 18,5% fenotipo MLS_B inducido, 22,2% fenotipo MLS_B constitutivo y 59,3% de fenotipo M. Durante el genotipado de estas cepas, 2 discreparon, fueron catalogadas como fenotipo MLS_I pero mostraron la presencia del gen *mef A/E*. En 4 cepas no se detectó ninguno de los dos genes estudiados. Sin embargo, *S. pneumoniae* sólo presentó 2 fenotipos de resistencia: 85% MLS_B constitutivo y 15% fenotipo M. Se confirmó por PCR la presencia del gen *mef A/E* en las cepas con fenotipo M.

Conclusiones: Las cepas de *S. pneumoniae* de nuestra área presentaron los dos fenotipos de resistencia ya descritos, sin embargo el porcentaje de fenotipo M (15%) fue algo superior respecto al documentado en otras áreas del país. Este hecho se confirmó por PCR.

Algunas cepas de *S. pyogenes* con fenotipo MLS_B presentaron cierta dificultad de interpretación, incluso 2 cepas de este grupo no confirmaron el fenotipo y mostraron la presencia del gen *mefA/E* en la determinación genotípica.

168

ASOCIACIONES DE LA RESISTENCIA A ERITROMICINA CON OTROS ANTIMICROBIANOS EN ESPECIES DE ESTREPTOCOCOS VIRIDANS

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

Servicio de Microbiología. Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Objetivos: La resistencia a eritromicina es común en estreptococos del grupo viridans (SGV). En *S. pneumoniae* se ha descrito asociación de esta resistencia con resistencia a penicilina y otros antimicrobianos. En este trabajo hemos pretendido determinar las asociaciones que existen entre las diferentes especies de nuestros SGV resistentes a eritromicina.

Métodos: Seleccionamos 47 SGV resistentes a eritromicina (E) y determinamos su sensibilidad por el método de dilución en agar (NCCLS) a penicilina (P), clindamicina (C) y tetraciclina (T). Los aislados se identificaron a nivel de especie mediante ID 32-Strep (Biomérieux) y posteriormente se clasificaron en grupos de especies según la clasificación de Coykendall.

Resultados: La distribución en grupos de especies de los 47 SGV fue: 22 *S. mitis*, 11 *S. sanguis*, 8 *S. milleri*, 5 *S. bovis* y 1 *S. salivarius*. La mayoría de los microorganismos (91%) manifestó resistencia a 2 o más de los antimicrobianos ensayados (43 de 47 cepas), siendo E-C-T el patrón de resistencia mayoritario (15 cepas; 32%). Le siguen en frecuencia la asociación E-P (23%) y E-C-P-T fue también muy frecuente (21%) de los que el 70% fueron *S. mitis*. Las asociaciones E-C (1 *S. milleri*) y E-C-P (1 *S. milleri*) fueron las menos frecuentes. El 80% de los *S. bovis* y el 62% de los *S. milleri* tuvieron fenotipo E-C-T.

Conclusiones: La resistencia únicamente a eritromicina fue rara (9%). En el 53% de las cepas se asocia la resistencia E-C-T con penicilina (21%) o sin penicilina (32%) lo cual no es sorprendente ya que los determinantes de resistencia a E-C-T se encuentran en el mismo transposon. El fenotipo más frecuente varía entre las diferentes especies de SGV indicando el interés de su identificación.

169

ACTIVIDAD DE SYNERCID® SEGÚN EL FENOTIPO DE RESISTENCIA A MACRÓLIDOS DE 111 ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO VIRIDANS

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

Servicio de Microbiología. Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

Objetivos: Synercid® es la asociación de quinupristina, una estreptogramina B, y dalfopristina, una estreptogramina A. Su espectro incluye los estreptococos del grupo viridans (SGV). Su actividad puede verse influida por la producción de una metilasa codificada por los genes *erm*: fenotipo MLS_B . El objetivo del nuestro estudio fue determinar el impacto del fenotipo MLS_B en la actividad de este compuesto y las eventuales resistencias de este grupo de estreptococos.

Métodos: Determinamos la sensibilidad a eritromicina clindamicina y synercid® por el método de dilución en agar (NCCLS) a 111 SGV aislados de hemocultivos. Estudiamos los fenotipos de resistencia por el método de doble disco de Seppala.

Resultados: Encontramos en esta población, un 42% de cepas resistentes a eritromicina con una CMI_{50} de 0,12 µg/ml y una CMI_{90} de 256 µg/ml. La resistencia a clindamicina fue del 24% con una CMI_{50} de 0,06 µg/ml y una CMI_{90} de 128 µg/ml. Dentro de las cepas resistentes a eritromicina el 57%

manifestaron fenotipo MLS_B constitutivo (27 cepas) y el 43% restante fenotipo M (20 cepas). El 2,7% de los SGV fueron resistentes a synercid®, que presentó una CMI_{50} de 1 µg/ml y una CMI_{90} de 2 µg/ml. Al comparar la actividad de synercid® frente a las cepas sensibles y resistentes a eritromicina la CMI_{50} varió de 0,5 a 1 µg/ml y la CMI_{90} de 1 a 2 µg/ml respectivamente. Las cepas MLS_B presentaron una CMI_{50} de 1 y una CMI_{90} de 4 µg/ml y estos valores para las cepas con fenotipo M fueron ambos de 1 µg/ml. Todas las cepas resistentes a synercid® tenían fenotipo MLS_B .

Conclusiones: Encontramos un alto porcentaje de resistencia a eritromicina, predominando el fenotipo MLS_B . Hay una disminución estadísticamente significativa de la actividad de synercid® sobre las cepas resistentes a eritromicina ($p < 0,05$) y sobre las cepas con fenotipo MLS_B ($p < 0,001$)

170

SENSIBILIDAD DE ENTEROCOCOS AISLADOS DE PORTADORES FECALES HUMANOS Y ANIMALES Y DE AGUAS

M. González*, M.T. Tejedor**, J.L. Martín** e I. de Miguel***

Dpto. Ciencias Clínicas. *Centro Ciencias de la Salud y

F. Veterinaria de la ULPGC. *Serv. Microbiología Hospital Insular. Las Palmas.

Objetivos: Detectar la presencia de enterococos resistentes a la vancomicina y otros antibióticos de importancia clínica en enterococos aislados de agua y de portadores fecales humanos y animales.

Resultados: Los porcentajes de resistencia son los siguientes: 7,6% resistencia de alto nivel a gentamicina (Gm500) y 19,1% a estreptomina (Sm2000); 1,9% a penicilina (P) y 0,5% a ampicilina (AM); y 0% a vancomicina y teicoplanina. Los porcentajes de resistencia de los enterococos de portadores fecales humanos son: 8,2% Gm500, 15,1% Sm2000, 4,1% P y 1,4% AM. Los de enterococos de origen animal: 6,8% Gm500, 33,9% Sm2000, 0% P y 0% AM. Los de agua: 6,5% Gm500, 10,4% Sm2000, 1,3% P y 0% AM. La resistencia se transmitió en el 23,5% de las cepas resistentes a Gm500 (2 de origen humano, una de animal y otra de agua) y en el 17,5% de las cepas resistentes a la Sm2000 (3 de origen humano, una de animal y otra de agua). La resistencia a la P y a la AM no se transmitió por conjugación. La resistencia a Gm500 se transmitió junto a la de tetraciclina en dos transconjugantes. La resistencia a la Sm2000 se transmitió junto a la eritromicina y cloranfenicol en dos y junto a la eritromicina, cloranfenicol y tetraciclina en otros dos.

Conclusiones: 1) Ausencia de enterococos vancomicina resistentes en portadores fecales humanos y animales; y en aguas depuradas y de playas. 2) Los enterococos muestran un porcentaje bajo de resistencia a P, AM, Gm500 y STR2000. 3) Los enterococos de origen animal muestran porcentajes más altos de resistencia de alto nivel a los aminoglicósidos, seguidos de los de origen humano y de los de agua. 4) Los enterococos de portadores fecales humanos y animales y aislados de agua constituyen un peligro potencial como reservorio de resistencia transmisibles a cepas causantes de infecciones en humanos.

171

IDENTIFICACIÓN GENOTÍPICA Y DETECCIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A GLICOPEPTIDOS MEDIANTE PCR EN ENTEROCOCCUS SPP

D. Velasco*, E. Gil*, M.A. Domínguez** y G. Bou*

*C.H. Juan Canalejo, La Coruña. **H. Bellvitge, Barcelona.

Objetivos: Desarrollo de técnicas de identificación (ID) genotípica mediante PCR en *Enterococcus spp.* Evaluación de los métodos bioquímicos de ID considerando la técnica molecular como referencia. Detección de genes que confieren re-

sistencia (R) a glicopéptidos y comparación con los sistemas de detección de R fenotípica.

Método: Se consideraron para el estudio de ID 58 aislamientos de *Enterococcus* aislados en los años 1999 y 2001: 25 *E. faecalis*, 26 *E. faecium*, 3 *E. casseliflavus*, 2 *E. avium*, 1 *E. gallinarum* y 1 *E. raffinosus* identificados fenotípicamente con MICROSCAN WALKAWAY (DADE) y API (BIOMERIEUX). Se aseguró la falta de clonalidad de las cepas mediante electroforesis in campo pulsado. La ID genotípica se realizó mediante PCR con primers específicos para *E. faecalis*, *E. faecium*, (D-Ala: D-Ala ligasa), *E. gallinarum* y *E. casseliflavus/fluvescens* (genes VanC1 y VanC2/C3). En el estudio de R se utilizaron 25 *E. faecalis*, 4 de ellos resistentes a vancomicina, y 23 *E. faecium*, 1 de ellos resistente a vancomicina (MICROSCAN, disco-difusión y E-Test). A todas las cepas se les testó la presencia de genes de R *VanA* y *VanB* mediante primers específicos.

Resultados: Todos los *E. faecalis* fueron bien identificados bioquímicamente. Sólo el 76,9% de los *E. faecium* fueron bien identificados fenotípicamente. 2 de los 3 *E. casseliflavus* y los 2 *E. avium* se identificaron correctamente. El aislamiento de *E. raffinosus* y el de *E. gallinarum* fueron mal identificados. Todos los aislamientos con R fenotípica a vancomicina contenían el gen *VanA*. El 14,2% de los *E. faecalis* y el 15,7% de los *E. faecium* fenotípicamente sensibles a glicopéptidos resultaron portadores del gen *VanA*.

Conclusiones: La ID genotípica es una alternativa válida a la ID bioquímica especialmente en enterococos diferentes a *E. faecalis*. Existen aislamientos de enterococos que aun permaneciendo fenotípicamente sensibles cuentan en su genoma con genes de resistencia a glicopéptidos.

172

EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS PARA FENOTIPAR ENTEROCOCOS RESISTENTES A LOS GLICOPÉPTIDOS

M. Ramos*, M. Amorim**, J. Cabeda** y J. Amorim*
Hospital Santo António, *Laboratorio de Microbiología,
**Unidad de Biología Molecular. Porto. Portugal.

Objetivos: Evaluación de un método apropiado para uso en la rutina para determinar el fenotipo de los enterococos resistentes a los glicopéptidos en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Santo António, Porto.

Material y métodos: Un total de 100 aislados clínicos de Enterococos (14 *E. faecalis*, 62 *E. faecium*, 2 *E. casseliflavus*, 2 *E. durans*) caracterizados genotípicamente como *VanA* (n = 93), *VanB* (n = 5), *VanC1* (n = 1), *VanC2/VanC3* (n = 1), fueron estudiados por tres métodos: ϵ test (AB BIODISK) Standard (Muller Hinton agar, inóculo de 0,5 McFarland, 35°C, ambiente, 24 h, el ϵ test macrométodo (Brain Heart Infusion agar, inóculo de 2 McFarland, 35 °C, ambiente, 24-48 h), el sistema automatizado Vitek 2 (tarjeta AST-P524, BioMerieux). El método de referencia utilizado fue PCR multiplex.

Resultados: Los resultados de cada método fueron interpretados como susceptible, intermedio o resistente, de acuerdo con los criterios recomendados por el fabricante y comparados con el genotipo de la resistencia a la vancomicina. La sensibilidad y especificidad de los métodos ϵ test Standard, ϵ test macrométodo y Vitek 2 para la detección del fenotipo *VanA* fue del 70 y 100%, 93 y 100%, 95 y 100%, respectivamente. A pesar de la sensibilidad del 100% en todos los métodos para detectar el fenotipo *VanB*, el número de resultados falsos positivos fue 28, 3 y 5 respectivamente. La sensibilidad y especificidad de los métodos ϵ test Standard y Vitek 2 para la detección del fenotipo *VanC* fue del 100%.

Conclusiones: El método ϵ test Standard no es eficaz para la detección del fenotipo *VanC*. Todos los métodos fenotípicos fueron incapaces de detectar las cepas que presentan un fenotipo *VanA* heterogéneo. Los procedimientos ϵ test macro-

método y Vitek2 son métodos precisos y sensibles para la detección del fenotipo de los enterococos resistentes a los glicopéptidos.

173

MECANISMOS GENÉTICOS DE LA RESISTENCIA A TETRACICLINA, ERITROMICINA, KANAMICINA Y CLORANFENICOL EN CEPAS DE ENTEROCOCCUS DE LA COMUNIDAD

R. del Campo, P. Ruiz-Garbajosa, T.M. Coque, R. Cantón, C. Torres y F. Baquero
Hospital Ramón y Cajal, Universidad de La Rioja.

Objetivo: Estudiar el fenotipo y genotipo responsable de la resistencia a tetraciclina (Te), eritromicina (Er), kanamicina (Km) y cloranfenicol (Cl) en cepas de *Enterococcus* aisladas en flora fecal normal de sujetos de la comunidad.

Material y métodos: Se han estudiado 240 cepas de *Enterococcus* (142 *E. faecalis*, 74 *E. faecium* y 23 *Enterococcus* spp) aisladas de 85 muestras de heces de sujetos sanos sin contacto hospitalario ni consumo reciente de antibióticos. La Concentración Mínima Inhibitoria para Te, Er, Km y Cl se determinó mediante dilución en agar (NCCLS, 2001). Se estudió por PCR la presencia de los genes *tet(M)*, *tet(L)*, *tet(K)*, *erm(B)*, *aph3* y *cat(A)*.

Resultados: Los porcentajes de resistencia en las cepas de *E. faecalis/E. faecium/Enterococcus* spp. fueron de 70/32/65 para Te, 81/74/67 para Er, 92/78/60 para Km (Resistencia de Alto Nivel) y 67/75/75 para Cl. Los genes implicados en la resistencia a Te fueron *tet(M)* (93,5%), *tet(L)* (36,2%), y *tet(K)* (18,1%). En 3 cepas (2%) no se identificó el mecanismo genético de la resistencia a Te. El 77,7% de las cepas *Er^R* portaban el gen *erm(B)*, mientras el 87% de las cepas con resistencia de alto nivel a Km amplificaban con los cebadores específicos de *aph3* y el 68% de las cepas *Cl^R* lo hacían para el gen *cat(A)*. En 16 cepas (13 *E. faecalis* y 3 *E. faecium*) se ha detectado la coexistencia de los genes *tet(M)*, *erm(B)*, *aph3* y *cat(A)*; mientras que en otras 25 cepas (19 *E. faecalis*, 3 *E. faecium* y 3 *Enterococcus* spp.) los genes *tet(M)*, *erm(B)* y *aph3* se han amplificado simultáneamente.

Conclusiones: El estudio realizado muestra que la resistencia simultánea a tetraciclina, cloranfenicol, eritromicina y kanamicina es frecuente en cepas de *Enterococcus* de la comunidad, siendo los genes más frecuentemente implicados *tet(M)*, *erm(B)*, *aph3* y *cat(A)*.

174

MUTACIONES EN LA PROTEÍNA L16 EN CEPAS DE ENTEROCOCCUS CON DISTINTOS VALORES DE CMI A EVERNINOMICINA

M. Zarazaga, C. Tenorio, R. del Campo, A. Portillo y C. Torres
Área de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de La Rioja. Logroño.

Objetivo: Estudiar la secuencia de la proteína ribosomal L16 en *Enterococcus* de distintas especies y con diferentes CMI a everninomicina (Ever).

Método: Determinación de CMI a Ever por E-test. Se estudiaron 21 cepas de *Enterococcus* con CMI a Ever \geq 0,75 μ g/ml: 2 *E. faecalis*, 12 *E. faecium*, 3 *E. durans*, 1 *E. casseliflavus* y 3 *Enterococcus* spp. También se incluyeron como controles 2 cepas (1 *E. faecalis* y 1 *E. durans*) con CMI de 0,19 μ g/ml. Por PCR y secuenciación se estudiaron las secuencias de la proteína L16 y se compararon con las de *E. faecalis* y *E. faecium* descritas previamente por Aarestrup (AAC, 44:3425). Las secuencias de *E. durans*, *E. casseliflavus* y *Enterococcus* spp se compararon con la secuencia de *E. faecium*.

Resultados: Los rangos de CMI's de las 21 cepas fueron (en µg/ml): *E. faecalis* (8,16); *E. faecium* (0,75-3); *E. durans* (1-2); *E. casseliflavus* (2) y *Enterococcus* spp (0,75-2). La cepa *E. faecalis* con CMI 8 presentó una mutación R51H, no descrita previamente. En ninguna de las 2 cepas *E. faecalis* estudiadas se observó la mutación R56H descrita por Aarestrup para *E. faecalis* con CMI ≥ 2. En *E. faecium* la mutación R56H se detectó en 4 cepas (CMI 1-3), la mutación I52T en una cepa (CMI 1,5) y las 7 cepas restantes (5 con CMI 0,75, 1 con CMI 1 y 1 con CMI 3) no presentaron mutaciones. En la cepa de *E. casseliflavus* (CMI 2) se detectaron dos mutaciones (R56H y P110S). Las 3 cepas *E. durans* y 2 *Enterococcus* spp presentaron una mutación P110S. En la tercera cepa *Enterococcus* sp no se detectaron mutaciones. De las dos cepas controles, en *E. durans* se observó únicamente la mutación P110S.

Conclusiones: 1) La mutación R51H en la proteína ribosomal L16, no descrita previamente, puede estar relacionada con incrementos en CMI a Ever en *E. faecalis*. 2) Mutaciones en las posiciones 52 y 56 se detectan en cepas con CMI ≥ 1 µg/ml pero no inferiores. 3) La mutación P110S no parece relacionarse con disminución de la sensibilidad a Ever. 4) Otros mecanismos podrían estar relacionados con los incrementos de CMI a Ever.

175

PREVALENCIA DE *esp* EN AISLADOS DE *ENTEROCOCCUS FAECIUM* DE DIFERENTES ORIGENES

T.M. Coque*, R. Willems**, R. Cantón*, R. del Campo* y F. Baquero*

*Servicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

**Research Laboratory for Infectious Diseases (RIVM).

Bilthoven. Holanda.

Introducción: *Enterococcus faecium* (EF) resistente a vancomicina (VREF) es un problema clínico relevante en hospitales de EEUU pero no en Europa aunque se han descrito cepas endémicas de EF ampicilina^R y vancomicina^S como sustrato de brotes epidémicos de VREF en algunos hospitales. Recientemente, se ha sugerido que el gen *esp* es un marcador de cepas VREF epidémicas aunque su papel como factor de virulencia es controvertido.

Objetivo: Investigar la presencia de *esp* en aislados de EF de diferentes orígenes e investigar si las subpoblaciones de EF *esp*+ están asociadas a una mayor virulencia o epidemio-idad.

Métodos: Se estudiaron 149 EF: 65 causantes de bacteriemia de 63 pacientes (1995-2000), 31 aislados consecutivos en 2000 causantes de otras infecciones (11 líquidos orgánicos, 9 orinas, 1 respiratoria y 1 ósea), 33 aislados de heces de 33 individuos sanos sin contacto hospitalario ni consumo reciente de antibióticos y 20 muestras de animales/ambientales. El estudio de clonalidad se realizó por PFGE y criterios de Tenover (1995). La presencia de *esp* se investigó por PCR (cebadores diseñados a partir de la secuencia de la variante *esp* de EF). La sensibilidad a antibióticos se detectó por dilución en agar (NCCLS).

Resultados: La presencia de *esp* fue más frecuente en cepas de pacientes hospitalizados que en las de individuos sanos (26% vs 6%, $p < 0,01$), identificándose en 7/46 clones aislados de sangre (15%), 10/31 clones causantes de otras infecciones, en solo 2/32 clones de individuos sanos (6%) y en ninguno de animales/ambientales. *Esp* fue más frecuente en EF ampicilina^R que en cepas sensibles (37% vs 5%, $p < 0,001$).

Conclusiones: La ausencia de *esp* en el 85% de los clones de EF causantes de bacteriemia sugiere que otras propiedades son importantes en la patogénesis de EF. La mayor frecuencia de *esp* en clones de EF epidémicos o resistentes a antibióticos podría ser consecuencia de la mayor especialización de las cepas productoras de *esp* en el hábitat hospitalario.

176

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS Y MECANISMOS IMPLICADOS EN CEPAS DE *ENTEROCOCCUS* spp AISLADOS DE NIÑOS SANOS

E. Domínguez, M. Zarazaga y C. Torres

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

Objetivo: Analizar los niveles de resistencia a distintos antibióticos y determinar los mecanismos implicados en cepas de *Enterococcus* spp. aisladas de muestras fecales de niños sanos menores de dos años.

Métodos: Cincuenta muestras fecales procedentes de niños sanos fueron sembradas en m-*Enterococcus* agar. De cada una de las muestras se tomaron dos colonias con típica morfología de enterococo que fueron identificadas por pruebas bioquímicas y por PCRs. Se determinaron las CMIs a 11 antibióticos de distintos grupos. Los mecanismos de resistencia fueron analizados por PCR.

Resultados: A partir de las muestras fecales, se aislaron un total de 94 cepas de *Enterococcus* de las siguientes especies: *E. faecalis* (61), *E. faecium* (14), *E. gallinarum* (4), *E. hirae* (3), *E. durans* (1) y *E. casseliflavus* (1). Los porcentajes de resistencia de alto nivel a kanamicina, estreptomycinina y gentamicina fueron 18%, 14% y 6% respectivamente. Los mecanismos de resistencia detectados fueron: [*aph*(3')-III + *ant*(6)] 10 cepas; [*aph*(3')-III + *aph*(2'')-*aac*(6')] 2; [*aph*(2'')-*aac*(6')](,1; [*aph*(3')-III + *aph*(2'')-*aac*(6') + *ant*(6)] 3. Veintiséis de las cepas (28%) presentaron resistencia a eritromicina. El gen *ermB* fue detectado en 22 cepas, *ermA* en 3 y *ermA+ermB* en una. Con respecto a la resistencia a tetraciclina, 49 de las 94 cepas mostraron resistencia a este antibiótico. La presencia de determinantes *tet* fue: *tetM* (43), *tetK* (3), *tetM* + *tetK* (3). Diez de las cepas presentaron resistencia a cloranfenicol, detectando el gen *cat* en 5 de ellas. El 14% de las cepas fueron resistentes a ciprofloxacina y el 5% mostró sensibilidad intermedia a vancomicina (CMI: 8-16 µg/ml; *vanC1*, 4 cepas; *vanC2*, 1). En ninguna cepa se detectó resistencia a teicoplanina. Los niveles de resistencia a penicilina fueron de un 2% (2 *E. faecium*).

Conclusión: 1) *E. faecalis* y *E. faecium* son especies predominantes en la flora intestinal de niños sanos. 2) Se han observado altos niveles de resistencia a tetraciclina y eritromicina, y moderado nivel a quinolonas y aminoglicósidos.

177

ACTIVIDAD *IN VITRO* DE LINEZOLID EN AISLADOS CLÍNICOS DE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

T. Peláez, R. Alonso, C. Pérez, L. Alcalá, O. Cuevas,

J.A. Gómez-Rodríguez y E. Bouza

Hospital "Gregorio Marañón". Madrid.

Introducción y objetivos: El tratamiento de elección para la diarrea asociada a *Clostridium difficile* (DACD) es metronidazol o vancomicina. Otros fármacos alternativos son cada vez más necesarios debido, entre otras razones, a la alta tasa de fracaso, a la frecuencia de recurrencias y al aislamiento de cepas con sensibilidad reducida a los citados antimicrobianos (comunicada por nuestro grupo y por otros). El linezolid pertenece a una nueva clase de antimicrobianos, las oxazolidinonas, con un amplio potencial de actividad. Nuestro objetivo fue examinar la actividad *in vitro* de linezolid en aislados clínicos de *C. difficile*, con especial interés en aquellos resistentes a metronidazol o con sensibilidad reducida a vancomicina.

Materiales y métodos: Se analizó un total de 115 aislados clínicos toxigénicos de *C. difficile* obtenidos en nuestro laboratorio en un periodo de 9 años (1993-2001). El total de aislados incluyó 6 resistentes a metronidazol y 12 con sensibili-

dad intermedia a vancomicina. Para la evaluación de la sensibilidad *in vitro* se utilizó la técnica de dilución en agar según las normas de la NCCLS. El punto de corte considerado para sensibilidad a linezolid fue ≤ 4 $\mu\text{g/ml}$.

Resultados: Las CMI₅₀ y CMI₉₀ a linezolid de los 115 aislados ensayados fueron 0,5 $\mu\text{g/ml}$ y 2 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. El rango de CMIs fue de 0,03 a 4 $\mu\text{g/ml}$. Las CMIs a linezolid de los aislados de *C. difficile* resistentes a metronidazol o con sensibilidad reducida a vancomicina no fueron significativamente distintas. Todos los aislados ensayados fueron considerados sensibles a linezolid.

Conclusiones: Aunque somos conscientes de que actividad *in vitro* no tiene porqué coincidir con actividad *in vivo*, pensamos que linezolid puede constituir una alternativa a metronidazol y vancomicina en el tratamiento de la DACD y por ello creemos necesario la realización de estudios de eficacia en casos de DACD en animales y humanos.

Sesión 9 Estreptococos beta-hemolíticos

178

CAMBIO DE LA EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN LA INFANCIA DESDE LA PROFILAXIS INTRAPARTO

R. Monfort, V. Pineda, J. Badia, I. Sanfeliu, M. García y R. Bou

Hospital de Sabadell. Corporació Parc Taulí. Sabadell.

Objetivo: Desde la introducción de la antibioterapia intraparto en las gestantes portadoras de estreptococo agalactiae (EGB), o con factores de riesgo infeccioso, ha disminuido la incidencia de la sepsis neonatal precoz (SNP). Sin embargo la incidencia de la forma tardía (SNT) parece ser que se mantiene invariable.

Métodos: Hemos estudiado todas las sepsis en neonatos y lactantes por EGB de nuestro Hospital desde noviembre 1989 hasta octubre 2001.

Hemos atendido 24.424 partos, con 24.410 nacidos vivos.

Resultados: Hemos diagnosticado 35 casos de infección invasiva por EGB. (21 SNP y 14 SNT). Hasta 1998, inicio de administración antibiótico intraparto, tenemos 20 casos de SNP (16 casos por 100.000 recién nacidos vivos y año), y 7 de SNT (5 por 100.000). A partir de 1998, sólo se ha registrado 1 caso de SNP (2,8 por 100.000), y 7 de SNT (19 por 100.000). En los casos de SNP, 20 de los 21 pacientes presentaban algún factor de riesgo materno: rotura precoz de membranas (9 casos) (RPM), cultivo positivo para EGB (7). En los de SNT, 9 de 14 presentaban algún factor: RPM (4) y cultivo positivo a EGB (2).

La forma de presentación clínica en la SNP fue: distrés respiratorio (11), hipotonía (6) y fiebre sin foco (5). En las SNT: síndrome febril sin foco (14). Los casos que han focalizado lo han hecho en forma de meningitis (5 precoces y 3 tardías) y celulitis (2 tardías). No hemos registrado ningún éxito.

Conclusiones: Desde el inicio de la profilaxis antibiótica intraparto la incidencia de SNP ha disminuido de forma estadísticamente significativa (de 16 a 2,8 por 100.000; $p = 0,001$). Mientras que la incidencia de la SNT ha aumentado, aunque no de forma estadísticamente significativa (de 5 a 19 por 100.000; $p = 0,4$). Por lo tanto parece ser que la antibioterapia materna intraparto no influye en la incidencia de la SNT por EGB.

179

DISTRIBUCIÓN DE SEROTIPOS DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN MUESTRAS RECTOVAGINALES DE GESTANTES

J. Rodríguez, M.C. González, J. Romero, M. Pérez, A. Sampedro y M. de la Rosa

Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: *Streptococcus agalactiae* (estreptococo grupo B, EGB) es el principal agente productor de sepsis neonatal. La colonización vaginal por EGB es la principal causa responsable de que el recién nacido adquiera el microorganismo en el momento del nacimiento a través del canal del parto. El estudio de los serotipos colonizantes en la madre es importante para un posible desarrollo futuro de vacunas frente a EGB.

Métodos: Se seleccionaron al azar 50 muestras recto-vaginales positivas para EGB previamente identificadas en el laboratorio mediante cultivo selectivo en medio Granada entre agosto y octubre de 2001. Todas las muestras se sembraron en medio Granada para identificación de EGB por producción de pigmento naranja típico. Se aisló en agar sangre una colonia de EGB de cada muestra y de este aislamiento, se inoculó una colonia de EGB en caldo de Todd-Hewitt a 30 °C durante 18 h para determinación del serotipo mediante aglutinación con antisueros específicos frente a los tipos Ia, Ib, II, III, IV y V (Denka Seiken).

Resultados: De las 50 muestras evaluadas se identificaron 12 serotipos Ia (24%), 8 serotipos Ib (16%), 9 serotipos II (18%), 14 serotipos III (28%) y 7 serotipos V (14%). No se identificó el serotipo IV entre las muestras estudiadas.

Conclusión: El serotipo III es el más frecuente en este estudio coincidiendo con estudios similares realizados en España con anterioridad (Cueto, 1989; Hervás, 1993). Sin embargo, en comparación con los datos de estos estudios, se observa una distribución más uniforme de los serotipos debida al aumento de cepas de los serotipos II y V y a la disminución en la detección de cepas de los serotipos Ia y Ib. Además, ninguna de las colonias analizadas fue clasificada como no tipable. Estos resultados sugieren que cualquier vacuna a desarrollar debe proteger frente a la infección por el serotipo V.

180

ANÁLISIS DE CLONES DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* AISLADOS DE MUJERES COLONIZADAS MEDIANTE PFGE Y SEROTIPADO

M. Pérez, J. Rodríguez, A. Sampedro, M.C. González y M. de la Rosa

Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: *S. agalactiae* (estreptococo grupo B, EGB) es el principal agente productor de sepsis neonatal. El recién nacido adquiere el microorganismo a través del canal del parto, y por tanto, el hecho de que la colonización materna pueda ser policlonal es importante no sólo para estudios epidemiológicos sino también para el desarrollo de vacunas apropiadas.

Métodos: Se analizaron 15 clones de EGB de cada una de 10 gestantes colonizadas (tomados en la semana gestacional 35-37) seleccionadas al azar, a las que se les realizó serotipado y PFGE para determinar la heterogenicidad de la colonización vaginal. El serotipo se realizó con antisueros específicos frente a los tipos Ia, Ib, II, III, IV y V (Denka Seiken). Finalmente, se hizo un gel para PFGE con todos los pulsotipos diferentes encontrados para comparar los patrones de DNA entre todas las mujeres.

Resultados: Se observó un pulsotipo idéntico entre los 15 clones evaluados en 8 de las 10 mujeres. En las 2 mujeres restantes, se observaron 3 pulsotipos distintos en cada una de ellas. En total, se identificaron 10 pulsotipos y 5 serotipos diferentes entre los 150 clones de EGB analizados. Entre los

serotipos, se detectaron dos Ia, un Ib, 5 serotipos III, un II y un V. En cada una de las mujeres se detectó un único serotipo entre los 15 clones analizados, incluyendo las dos con tres pulsotipos diferentes.

Conclusión: Pueden coexistir diferentes pulsotipos en una misma mujer, lo cual debe tenerse en cuenta para el estudio de la transmisión vertical y horizontal de EGB al recién nacido. Además, los resultados sugieren que serotipos distintos podrían colonizar simultáneamente a una misma mujer, hecho importante a considerar para el futuro desarrollo de vacunas.

181

LA ENFERMEDAD NEONATAL POR *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN EL HOSPITAL DE VALME DE SEVILLA

C. Flórez, C. Serrano, R. Claro, M. Ramírez y E. Martín Mazuelos
Servicio de Microbiología. Hospital de Valme. Sevilla.

Objetivos: Conocer la incidencia y las formas clínicas de la infección neonatal por *S. agalactiae* en el hospital de Valme entre enero de 1993–noviembre 2001 y el impacto que ha tenido la introducción de la profilaxis intraparto a finales de 1997 siguiendo las directrices del CDC.

Métodos: El sistema de hemocultivos utilizado fue el BACTEC 9240 con los frascos BACTEC PEDIATRIC/F. La identificación se realizó por métodos convencionales.

Resultados: Se detectaron 81 casos de bacteriemia de las que 5 fueron tardías (más de una semana) y 10 meningitis (1 tardía). La incidencia de sepsis por año y por 1.000 nacidos vivos fue: 12 casos en 1993 (3,11 por mil), 12 en 1994 (3,26 por mil), 10 en 1995 (3,68 por mil), 10 en 1996 (2,88 por mil), 11 en 1997 (3,07 por mil), 6 en 1998 (1,69 por mil), 6 en 1999 (1,67 por mil), 5 en el 2000 (1,49 por mil) y 9 en los diez primeros meses del 2001 (3,27 por mil). La incidencia de las bacteriemias descendieron significativamente ($p < 0,05$) tras la introducción de la profilaxis con la excepción del año 2001. Los casos de meningitis se distribuyeron de una forma uniforme a lo largo del periodo estudiado.

Conclusiones: 1) La administración de la profilaxis consiguió descender los casos de sepsis a la mitad con la excepción del año 2001. 2) La menor incidencia de sepsis por *S. agalactiae* en nuestra área ha sido de 1,49 por mil nacidos vivos. 3) El ascenso del nº de casos en el 2001 ha hecho que se revise la realización del protocolo de profilaxis en nuestra área.

182

ANÁLISIS DEL SCREENING DE COLONIZACIÓN POR *S. AGALACTIAE* EN EMBARAZADAS Y LA ENFERMEDAD NEONATAL EN EL AÑO 2001

M. Ramírez, C. Flórez, J.L. García López, C. Nogales, C. Serrano, E. Martín Mazuelos, R. Claro, M. Caballero y A. Benjumea
Hospital de Valme. Sevilla.

Objetivos: Conocer el grado de cumplimiento de la realización del screening de colonización por *S. agalactiae* a las gestantes de nuestra área y la tasa de positividad. Analizar la relación de la enfermedad neonatal con los resultados del screening y el tratamiento o su falta en caso de no haber sido administrado.

Métodos: Siguiendo la recomendación del CDC, se realizan cultivos vaginorectales (o un cultivo vaginal y otro rectal) entre las 35 y 37 semanas de gestación a todas las embarazadas para la detección del *S. agalactiae*. Las muestras se cultivan en el medio Granada. Los resultados de los cultivos han de estar disponibles en el momento del parto para administrar la profilaxis antibiótica intraparto con ampicilina o penicilina. En los casos en que se produjo la infección neonatal se revisó si se habían tomado las medidas oportunas para prevenir la transmisión vertical

Resultados: Entre enero–noviembre del año 2001 se produjeron 2.623 partos. La detección de *S. agalactiae* se realizó en 2.715 muestras con una positividad del 14,2%. En este periodo se detectaron 9 casos de infección neonatal (3,27 por mil nacidos vivos). Dos casos fueron sepsis tardías, y siete precoces (menos de una semana) existiendo en uno de los casos también meningitis. En las sepsis tardías el screening fue negativo en un caso y en el otro no se realizó y en las precoces fue negativo en tres y positivo en cuatro recibiendo la profilaxis solo una de las gestantes y de forma incompleta por desconocimiento de los resultados.

Conclusiones: 1) La incidencia de infección neonatal por *S. agalactiae* en los diez primeros meses del año 2001 fue de 3,27 por mil. 2) Los casos positivos no recibieron tratamiento debido a que el protocolo de profilaxis se realizó muy tarde. 3) El screening de las sepsis precoces fue negativo en el 42,8% de los casos.

183

TASA DE PORTADORAS DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* (EGB) EN GESTANTES DEL ÁREA 2 DE MADRID DESDE 1997 AL 2000

M.A. Blanco-Galán, I. Sánchez-Romero, F. Hernández, F. Salazar y A. Izquierdo
Hospital Universitario Santa Cristina. Madrid.

Objetivo: Conocer la evolución de la tasa de portadoras rectorvaginales de EGB, estudiadas entre la 35-37 semanas de gestación durante los 4 últimos años (1997-2000), en mujeres pertenecientes al área 2 de Madrid.

Métodos: Desde enero de 1997 hasta diciembre de 2000, ambos inclusive, se estudiaron 2933 gestantes pertenecientes al área 2 de Madrid. Entre las semanas 35-37 de gestación, se realizaron exudados vaginal y rectal o exudado vagino-rectal para la detección de EGB. Las muestras se tomaron con torunda con medio de transporte Amies, en el laboratorio de Microbiología se inocularon en placas de CNA hasta el año 1999 y posteriormente en medio Granada y seguidamente en caldo Todd-Hewitt. Ambos medios se incubaron durante 24-48 horas a 37 °C, las placas en una atmósfera con un 5-10% de CO₂ y el caldo en aerobiosis. Se realizó subcultivo de caldo a placa de CNA, o Granada, incubándose en las condiciones descritas previamente. Las colonias B-hemolíticas y no hemolíticas catalasa negativas sugerentes de ser *Streptococcus* spp. se identificaron mediante aglutinación con látex en las placas de CNA y las colonias de característico color naranja en medio Granada se consideraron EGB.

Resultados: El número de gestantes estudiadas fue de 625 en 1997, 423 en 1998, 702 en 1999 y 1.183 en 2000. El porcentaje de portadoras fue el siguiente: 19,6%, 20,8%, 18,8%, 20% en 1997, 1998, 1999 y 2000 respectivamente.

Conclusiones: 1) La tasa media durante estos años en nuestra población ha sido del 19,8%. 2) Estos altos porcentajes de portadoras de forma mantenida durante estos años, son debidos al uso sistemático de la placa directa más el pase del caldo de enriquecimiento, cuando la placa directa es negativa.

184

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE COMO AGENTE ETIOLÓGICO A TENER EN CUENTA EN LAS INFECCIONES DE PIE DIABÉTICO

M. Rotger, E. Padilla, A. Ramírez y E. Ruiz de Gopegui
Laboratorio de Microbiología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca.

Las infecciones de pie diabético son una causa importante de hospitalización en enfermos con diabetes mellitus.

Objetivos: Revisar la etiología del pie diabético y su tratamiento. Conocer la frecuencia de aparición del *S. agalactiae* en este tipo de lesiones.

Métodos: Se recibieron 138 peticiones de cultivo de infección de pie diabético, recibidas durante el año 2000; de las cuales 119 fueron positivas. Se analizaron parámetros tales como: la edad del paciente, los microorganismos aislados y el tratamiento recibido así como su duración.

Resultados: en cuanto a la etiología de este tipo de lesión, el grupo de las enterobacterias fue el más frecuente (25%) seguido de *S. aureus* (22%) y del grupo de los estreptococos (18%). Los anaerobios sólo representaron un 13% del total de aislados.

Destacó el aislamiento de *S. agalactiae* representando un 40% del total de estreptococos.

Un 44% de los cultivos fueron mixtos.

El tratamiento más utilizado por los cirujanos fue en la mayoría de los casos la clásica pauta de β -lactámico + aminoglucósido + metronidazol con variabilidad en su duración según el tipo de úlcera. En muchos casos se llegó a la amputación.

Conclusiones: *S. agalactiae* es el estreptococo que se aísla con más frecuencia en las úlceras de pie diabético y sin embargo en otras úlceras o heridas se aísla en número inferior con respecto al resto de microorganismos.

Bajo porcentaje de anaerobios aislados debido a que la toma de muestra y el medio de transporte utilizado probablemente no fueron los más adecuados.

Incluso conociendo la etiología de la infección en la mayoría de los casos no se modificó el tratamiento. Los antibióticos del tipo carbapenems aunque muy efectivos *in vitro*, no se utilizaron de forma rutinaria.

185

¿QUÉ SIGNIFICA EL AISLAMIENTO DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* DE ORINA DE PACIENTES EXTRAHOSPITALARIOS?

C. Hernaiz, N. Antón, B. Orden, M.A. Orellana, J. Colomina, J. Redondo, J.L. Gómez-Garcés y J.I. Alós. Grupo de Infección en Atención Primaria de la SEIMC (IAP-SEIMC).

Hospital de Móstoles. Microbiología. Móstoles. Madrid.

S. agalactiae es una causa conocida de infección grave en neonatos, embarazadas y personas con patología de base o enfermedades crónicas. Su aislamiento de orina de pacientes extrahospitalarios ha ido en aumento en los últimos años y poco se sabe en estos casos de su significado clínico.

Objetivo: En 2001 realizamos un estudio prospectivo clínico-microbiológico en 5 centros de España para establecer el significado clínico de los aislamientos en orina de *S. agalactiae* de pacientes extrahospitalarios.

Métodos: Por cada aislamiento de *S. agalactiae* se rellenó un protocolo que incluía edad, sexo, enfermedades de base, factores urinarios predisponentes, infecciones urinarias en el último año, manifestaciones clínicas, duración de los síntomas, uso previo reciente de antibióticos, leucocituria y hematuria. Con todo ello se llegó a un diagnóstico.

Resultados: Se obtuvo información valorable de 85 pacientes, 79 mujeres y 6 varones; el 62,4% tenían entre 16 y 64 años y el 37,6% más de 65 años. Globalmente el 52,9% presentaba cistitis no complicada, el 29,4% bacteriuria asintomática, el 14,1% infección complicada y el 3,6% infección asociada a catéter. El 20% de las mujeres eran gestantes y el 88,2% de ellas tenía bacteriuria asintomática. Veinticinco pacientes (29,4%) presentaron algún episodio de ITU en el último año.

Conclusión: El aislamiento de *S. agalactiae* de orina de pacientes extrahospitalarios se da fundamentalmente en mujeres y en el contexto clínico de cistitis no complicada. La bacteriuria asintomática también es una situación frecuente sobre todo en embarazadas.

186

INFECCIONES INVASIVAS POR ESTREPTOCOCCO GRUPO B EN ADULTOS

M. de Cueto, A. Pascual, C.M. del Castillo, A.I. Suárez, L. Martínez-Martínez Y. Guerrero y E.J Perea

Dpto. Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Estudiar las características clínico-epidemiológicas de las infecciones invasivas por *S. agalactiae* (Estreptococo grupo B, EGB) en adultos, no relacionadas con la gestación.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de los pacientes con infección invasiva por EGB, fuera del período perinatal, a partir de los aislamientos de hemocultivos y cultivos de líquidos normalmente estériles, durante el período enero 2000-octubre 2001. Los hemocultivos fueron procesados en el sistema Bactec 9240 o BacT/Alert. Los líquidos estériles fueron procesados siguiendo pautas habituales. La identificación de EGB se realizó con el sistema API 20 Strep y se confirmó serológicamente (Phadebact Strep B).

Resultados: Durante el período de estudio se documentaron 19 infecciones invasivas por EGB: 13 bacteriemias (68,4%), 3 peritonitis (15,7%), 2 artritis (10,5%) y 1 meningitis (5,2%). La edad media de los pacientes fue 65,8 años, 11 varones (57,8%) y 8 mujeres (42,1%). Todas las infecciones se presentaron en pacientes con patología subyacente: 10 (52,6%), diabetes mellitus; 4 (21,05%), insuficiencia renal; 4 (21,05%), hepatopatía; 3 (15,7%), enfermedad neurológica y 2 (10,5%), neoplasias. La frecuencia de bacteriemia por EGB fue de 12/1000 bacteriemias, siendo la 2ª especie de estreptococo más frecuentemente aislada en hemocultivos tras *S. pneumoniae*. La mayoría de las bacteriemias fueron de foco desconocido (30,7%). Sólo hubo un caso de bacteriemia polimicrobiana. La mortalidad global fue del 50%, 75% directamente relacionada con la infección.

Conclusiones: La infección invasiva por EGB se presenta en pacientes de edad avanzada con patología grave de base. La mortalidad es elevada, probablemente en relación con la patología asociada. La presentación más frecuente es bacteriemia de foco desconocido.

187

STREPTOCOCCUS AGALACTIAE EN INFECCIONES OSTEOARTICULARES Y DE TEJIDOS BLANDOS. TRATAMIENTO Y EVOLUCIÓN

C. Netto, C. Carod, M. Roselló*, G. Serrate, M. Sala y F. Segura
*S. Medicina Interna y *Laboratorio de Microbiología. Corporació Parc Taulí. Sabadell.*

Objetivo: Describir la presentación clínica, tratamiento y evolución de las infecciones osteoarticulares y de tejidos blandos en las que se ha aislado *Streptococcus agalactiae* durante un período de 2 años.

Material y método: Estudio descriptivo retrospectivo de las infecciones osteoarticulares y de tejidos blandos en un período comprendido entre enero de 1999 y enero 2001 en las que se aísla *Streptococcus agalactiae* en el cultivo de un espécimen valorable, considerándose como tal cualquier exudado o tejido obtenido asépticamente por punción o disección.

Resultados: Se detectaron 30 pacientes con aislamiento de *S. agalactiae* con una edad media de 56 ± 17 años y el 46,7% fueron mujeres. Se aisló *S. agalactiae* en 23 exudados, 7 hemocultivos y un líquido articular. El 26% fueron post-quirúrgicos. El 26,7% presentaban infección osteoarticular. El 73% de los pacientes presentaban algún factor de riesgo, siendo los más prevalentes la diabetes (36,7%) y la enfermedad neoplásica (20%). La infección se manifestó de forma sistémica en el 40%. Se requirió tratamiento quirúrgico en el 37% de los casos. En el 50% se aisló más de un germen, siendo *Staphylococcus aureus* el más frecuente (33%). En todos

los casos *S. agalactiae* fue sensible a la ampicilina. Los betalactámicos fueron el tratamiento antibiótico más utilizado (50%) seguido de las quinolonas (23%) con una duración de 31 ± 29 días. Resultaron curados el 93% de los pacientes.

Conclusiones: Es frecuente que las infecciones osteoarticulares y de tejidos blandos por *S. agalactiae* aparezcan en pacientes con factores de riesgo y tengan repercusión sistémica. La alta asociación a otros microorganismos comporta la necesidad de ampliar el espectro antibacteriano terapéutico a pesar de la alta sensibilidad de *S. agalactiae* a ampicilina. Tanto los betalactámicos como las quinolonas han resultado eficaces para la curación de estas infecciones.

188

ENFERMEDAD INVASIVA POR ESTREPTOCOCO DEL GRUPO B EN ADULTOS NO GESTANTES: UNA INFECCIÓN EN AUMENTO

D. Blancas, M. Santín, M. Olmos, F. Alcaide, J. Carratalá y F. Gudiol

Serv. de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Bellvitge. Barcelona.

Objetivos: 1) Determinar la incidencia de infección invasiva por estreptococo del grupo B (EGB) en el ámbito de un hospital de tercer nivel. 2) Describir el contexto clínico en que se produce, presentaciones clínicas y evolución.

Métodos: Estudio retrospectivo de los casos de infección invasiva por EGB en pacientes adultos, no gestantes, durante el período 1993-2000. Infección invasiva se definió como aislamiento de EGB de algún sitio estéril, muestra quirúrgica o foco supurativo. Los casos fueron identificados a partir de los registros del Servicio de Microbiología y del seguimiento prospectivo de las bacteriemias del hospital.

Resultados: Se identificaron 191 pacientes con aislamientos de EGB. Tras excluir 43 pacientes sin criterios establecidos o sin documentación clínica disponible, se analizaron 150 episodios, correspondientes a 148 pacientes. La incidencia de infección invasiva/bacteriemia aumentó desde 0,53/0,15 por 1000 ingresos en el período 1993-94 hasta 0,96/0,42 por 1000 ingresos en 1999-00. La media de edad fue de 61 a. (24-96); un 34% eran mayores de 70 a. No hubo diferencias entre sexos. Las localizaciones más frecuentes fueron: infecciones de piel y partes blandas (47%), osteoarticulares (17%), peritonitis (9%), bacteriemia primaria (9%), infecciones del tracto urinario (8%), endocarditis (4%) y otras (6%). En 139 (93%) casos existía una condición debilitante de base, predominando la diabetes mellitus (39%), neoplasias (25%) y hepatopatía crónica (13%). La mortalidad global fue de 9,3%; 17% en los casos de bacteriemia.

Conclusiones: La incidencia de infección invasiva por estreptococo del grupo B en adultos no gestantes está en aumento. En la mayoría de los casos afecta a personas de edad avanzada y, casi invariablemente, existe alguna enfermedad debilitante de base. La presencia de bacteriemia condiciona un mal pronóstico. La mejoría de las expectativas de vida entre personas con enfermedades crónicas debilitantes y la utilización de terapias más agresivas, podrían tener relación con el protagonismo creciente de estas infecciones.

189

BACTERIEMIAS POR *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* EN ADULTOS EN EL ÁREA IX DE MADRID DURANTE UN PERIODO DE 12 AÑOS

M.D. Martín, Y. Gil, G. Seseña, A. Sánchez-Valladares, J.M. del Álamo, M. Páez e I. Wilhelmi

Servicio de Microbiología. Hospital Severo Ochoa. Leganés. Madrid.

Objetivo: Conocer las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de la bacteriemia por *S. agalactiae* (BSA), diagnosticadas en el Hospital Severo Ochoa durante 12 años (1990-2001).

Material y método: Revisión retrospectiva de historias clínicas y archivos del Servicio de Microbiología, con recogida de datos en una hoja protocolo.

Resultados: Se detectaron 84 episodios de BSA, que representan el 1,68% de todas las bacteriemias y el 0,43 por mil ingresos. En el 59% de los casos, la población afectada fue neonatos, en el 2,3% el resto de la población pediátrica y en el 38% la población adulta (14,2% en gestantes y 23,8% en no gestantes). En adultos no gestantes, 50% eran varones y 50% mujeres. La mediana de edad fue de 64 (26-89) y el 70% de los casos fueron de adquisición comunitaria. La BSA fue secundaria a un foco evidente en el 35% de los casos. Las enfermedades de base más frecuentemente detectadas fueron: neoplasias (30%), hepatopatía (25%), cardiopatía (20%), etilismo (20%) y diabetes en el 10%. El 35% de los pacientes presentaba más de una enfermedad de base. La mortalidad en este grupo fue del 25% (5 pacientes), estando directamente relacionada con BSA en 4 casos. La estancia media hospitalaria fue de 9,5 días (3-29). En gestantes se diagnosticaron 12 episodios de BSA (0,4% de todos los partos); en 7 casos (58%) había antecedentes reciente de cesárea, en otro aborto séptico, un caso de IVE, un caso de embrioreducción, y otros dos de rotura prematura de membranas. Se evidenció foco primario en 7 casos (58%): tres episodios de endometritis, dos casos de posible corioamnionitis y en dos pacientes, infección de herida de cesárea. La evolución fue favorable en todas las pacientes, siendo la estancia media hospitalaria en este grupo de 10 días (5-21).

Conclusiones: La BSA afecta preferentemente a personas añosas y con enfermedades de base severas y tiene elevada mortalidad en este grupo a diferencia del buen pronóstico encontrado en gestantes.

190

INFECCIÓN INVASIVA POR ESTREPTOCOCO GRUPO B EN ADULTOS NO GESTANTES

C. Miranda, J. Rodríguez, A. Sampedro, M. García, M.C. González y M. de la Rosa

Serv. Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. Granada

Introducción: *Streptococcus agalactiae* (estreptococo grupo B; EGB) es la principal causa de sepsis y meningitis en recién nacidos, así como un importante patógeno en mujeres embarazadas. EGB es también un importante agente productor de infección invasiva en adultos susceptibles.

Objetivo: Conocer el espectro clínico y factores predisponentes en infecciones invasivas por EGB en adultos no gestantes.

Pacientes y métodos: Período de estudio: enero 1998-septiembre 2001. La infección por EGB se diagnosticó en base al aislamiento de EGB de un lugar estéril (LCR, sangre, líquido articular) o tejido obtenido por cirugía. Las muestras se sembraron en medios habituales. EGB se identificó por procedimiento bioquímicos, aglutinación con sueros grupo específicos y pigmentación en medio Granada.

Resultados y discusión: Se han analizado 27 aislados correspondientes a 26 pacientes (12 varones y 14 mujeres); la edad media de éstos fue de 55,6 años (rango 18-91). EGB se aisló de sangre en 17 casos (62,9%), biopsias en 4 (14,8%), líquido articular en 2 (7,4%), líquido peritoneal en 2 (7,4%), LCR en 1 caso (3,7%), válvula aórtica en 1 (3,7%). El diagnóstico clínico fue bacteriemia primaria en 11 (42,3%), infección osteoarticular en 5 (19%), endocarditis 3 (11,5%), peritonitis en 2 (7,7%), neumonía 1 (3,8%), infección catéter central 1 (3,8%), meningitis 1 (3,8%), otros 2 (7,7%). Se encontraron condiciones de base en 23 (84,4%) pacientes: diabetes en 6 (23%), infección por VIH en 1 (3,8%), cirrosis en 3 (11,5%), abuso de alcohol 2 (7,7%), mayores de 65 años 3 (11,5%), ADVP 3 (11,5%), trasplantados 2 (7,7%), y cirugía 3 (11,5%). EGB se recuperó como único patógeno en 20 casos (74%), y en 7 (26%) asociado a

otros microorganismos: *S. aureus* en 5 (2 MRSA) casos y Enterobacterias en 2.

Conclusión: La mayor parte de los pacientes con infección invasiva por EGB presentan algún factor de base, siendo el más frecuente la diabetes.

191

ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES MEDIOS DE CULTIVO PARA DETECTAR LA COLONIZACIÓN POR ESTREPTOCOCCO DEL GRUPO B

J. Bosch, R.M. Martín y M.T. Jiménez de Anta
Hospital Clínic-Maternitat. Barcelona.

El objetivo del trabajo ha sido comparar la eficacia de tres medios de cultivo para detectar la colonización vaginal y rectal por estreptococo del grupo B (EGB) en mujeres gestantes. Durante 4 meses (de marzo a junio del 2001) se procesaron 1334 muestras pertenecientes a 861 gestantes: en 388 pacientes se cultivó sólo frotis vaginal (grupo A) y en 473 frotis vaginal y rectal (grupo B). Las muestras se sembraron *a)* en una placa de Agar Sangre con colistina y ácido nalidixico (AS-ANC) incubada a 37 °C en CO₂ durante 48 horas, *b)* en 1/4 de placa de Medio de Granada incubada a 37 °C en anaerobiosis durante 48 horas, y *c)* en un tubo de Caldo Todd-Hewitt con amikacina (CTH-A) incubado a 37 °C durante 24 horas con posterior resiembra en 1/2 placa de AS-ANC. Se identificó EGB mediante la producción de pigmento, aglutinación de látex o pruebas bioquímicas.

Se aisló EGB en 181 muestras (13,6%): 114 vaginales (13,2%) y 67 rectales (14,2%). De las muestras positivas, EGB se aisló en AS-ANC en un 60,5% de frotis vaginales y en un 59,7% de rectales, en Medio de Granada en un 80,7% de vaginales y en un 91% de rectales, y en CTH-A en un 97,4% de vaginales y en un 97% de rectales.

Se detectaron 130 portadoras de EGB: 54 (13,9%) en el grupo A (estudio vaginal) y 76 (16,1%) en el grupo B (estudio vaginal y rectal). En ambos grupos de estudio A y B, el porcentaje de portadoras detectadas fue respectivamente del 59,3 y 75% en AS-ANC, del 77,8 y 93,4% en Medio de Granada y del 96,3 y 97,4% en CTH-A.

El CTH-A fue el medio más eficaz para detectar EGB. La combinación del CTH-A con la placa inicial de Medio de Granada o de AS-ANC permitió detectar más del 99% de las portadoras. La utilización del Medio de Granada permitió la detección de casi un 87% de las portadoras en menos de 24 horas.

192

EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA DE ESTREPTOCOCCOS β-HEMOLÍTICOS DE LOS GRUPOS A Y B

A.I. Suárez, E. Ceballos, C.M. del Castillo, A. Encinas,
Y. Guerrero, M. de Cueto y E.J. Perea

Departamento de Microbiología. H.U. Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Analizar la evolución y estado actual de la resistencia a eritromicina y clindamicina de los estreptococos β-hemolíticos del grupo A (EGA) y B (EGB).

Material y métodos: Se han estudiado 564 cepas de EGA y 2.123 de EGB, aislados de diferentes muestras clínicas durante un período de cuatro años (1998-2001).

La sensibilidad a antibióticos se determinó mediante técnica de difusión en agar Mueller-Hinton 5% sangre de carnero con discos de eritromicina (15 µg) y clindamicina (2 µg).

La incubación se realizó, durante 24 horas en atmósfera de 5% CO₂. Para la interpretación de los resultados se han seguido los criterios del NCCLS.

Resultados: Los porcentajes de cepas resistentes a eritromicina y clindamicina, durante los años de estudio fueron respectivamente:

SGA: 1998 (27%/4,8%), 1999 (16,5%/3%), 2000 (30,2%/2,1%), 2001 (32,5%/1,6%).

SGB: 1998 (4,75%/8%), 1999 (11,1%/11,3%), 2000 (10,4%/10,1%), 2001 (11,2%/10%).

Conclusiones: La resistencia de EGA y EGB a eritromicina y clindamicina, aunque elevada, se mantiene estable a partir de 1999. El fenotipo M de resistencia de EGA es actualmente el predominante. El porcentaje de cepas de EGB resistentes a eritromicina y clindamicina obligará, posiblemente, a establecer alternativas a su empleo en profilaxis intraparto.

193

PREVALENCIA DE STREPTOCOCCUS AGALACTIAE EN GESTANTES Y SENSIBILIDAD A ERITROMICINA Y CLINDAMICINA

I. De Toro, P. Bermúdez, A. Guzmán, L. Martín, J. Díaz
y P. Blanc

C.H. Carlos Haya (Materno Infantil) Málaga.

Objetivos: 1) Conocer la prevalencia de colonización vaginal por *S. agalactiae* (EGB) en mujeres embarazadas. 2) Conocer la sensibilidad de estas cepas a eritromicina y clindamicina, antibióticos usados como alternativa en la profilaxis de la sepsis neonatal por EGB cuando existe alergia a betalactámicos.

Material y métodos: Se han recibido un total de 2.475 exudados vaginales de mujeres en la 37 semana de gestación desde marzo de 2000 a agosto de 2001. Las muestras se cultivaron en medio Granada y agar sangre. Las cepas productoras de pigmento se identificaron directamente en el medio Granada y las no pigmentadas se identificaron mediante panel 3W del sistema Wider (Soria Melguizo). Se estudió la sensibilidad a eritromicina y clindamicina mediante difusión disco-placa en agar sangre y en las cepas resistentes a estos antibióticos se estudió su CMI mediante paneles 1W con Müller-Hinton suplementado con 5% de sangre lisada de caballo (Wider, Soria Melguizo)

Resultados: Se han aislado 227 cepas de *S. agalactiae*, lo que representa una prevalencia de colonización del 9,5%, siendo 4 de ellas no pigmentadas (2% de las cepas). 27 cepas presentaron resistencia a eritromicina y clindamicina (11,9%), y 2 cepas resistencia solamente a eritromicina (0,8%). Las resistencias halladas por el método de difusión se confirmaron al realizar la CMI.

Conclusiones: 1) La prevalencia de gestantes portadoras en nuestro medio (9,5%) coincide con la descrita en otros estudios. 2) El porcentaje de resistencia a eritromicina y clindamicina encontrado (12,7% y 11,9% respectivamente) aconseja realizar un estudio de la sensibilidad a ambos antibióticos, en caso de alergia a betalactámicos.

194

SENSIBILIDAD DE ESTREPTOCOCCO GRUPO B (S. AGALACTIAE)

A. Sánchez-Maroto, L. Valdés, C. López-Goti, A. García-Perea
y A. Carvajal

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario La Paz, Madrid.

Objetivo: Conocer la sensibilidad del Estreptococo grupo B (EGB) en nuestro hospital.

Material y métodos: Desde enero de 2000 a octubre de 2001 se estudia la sensibilidad de 218 cepas de EGB procedentes de los controles vaginales y rectales realizados a las gestantes (55,5%), de orina (26,1%), sangre (5,5%), LCR (2,3%) y otros exudados (10,6%). Se consideró un único aislamiento por paciente. Las pruebas de sensibilidad se reali-

zaron, en todos los casos, con el panel de microdilución en caldo deshidratado, WIDER 1W (Francisco Soria Melguizo SA). En caso de duda, los resultados se confirmaron mediante las tiras de E-test (AB BIODISK) y pruebas de antagonismo con discos.

Resultados: EGB permanece sensible a la penicilina (CMI 0,12 µg/ml) y al resto de los antibióticos β-lactámicos probados excepto cefixima. También es sensible a los glucopéptidos y al levofloxacino. Más del 90% de las cepas tiene una CMI > 4 µg/ml para la tetraciclina y se consideran resistentes. El 22% de las cepas presenta además otro tipo de resistencia. Fenotipos de resistencia: Eritromicina + clindamicina: 37 cepas (77,1%), Eritromicina + Clindamicina + Cloranfenicol: 4 cepas (8,3%), Eritromicina: 3 cepas (6,3%) y Cloranfenicol: 4 cepas (8,3%). La resistencia a los macrólidos no es homogénea: la mayor incidencia (41 cepas) está asociada a la clindamicina, generalmente con una CMI > 256 µg/ml. Tres cepas presentan resistencia a eritromicina y claritromicina, con CMI de 2-16 µg/ml, sin observarse antagonismo entre eritromicina y clindamicina: fenotipo M de resistencia, similar al descrito en *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*.

Conclusiones: Dado que los macrólidos y la clindamicina constituyen un tratamiento alternativo, en caso de alergia a la penicilina es aconsejable realizar pruebas de sensibilidad previas a su uso.

195

BROTE FAMILIAR EN "PING-PONG" DE *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

A. Mazón, A. Gil-Setas, L.J. Sota de la Gandara, A. Vindel* y J.A. Sáez-Nieto*

Servicio Navarro de Salud. *Servicio Bacteriología. CNM. Instituto Salud Carlos III.

Objetivo: Describir las características de las sucesivas infecciones estreptocócicas que afectaron a una familia durante 10 meses.

Métodos: Familia compuesta de 3 hermanos de 11 (mujer A), 10 (varón B) y 4 (varón C) años, y los padres, sin antecedentes clínicos de interés. Se aisló *Streptococcus pyogenes* (SGA) de frotis faríngeo y piel perianal. T-tipificación: Aglutinación en porta con sueros T-específicos (Seiken). Campo pulsado: Se obtuvieron los perfiles de restricción con los enzimas *SmaI* y *Apal*. Antibiograma: método de dilución en agar (pen, ery, clin, tetra).

Resultados: Se aislaron 13 SGA de 4 clones diferentes: 7 asociados a infecciones agudas (faringoamigdalitis, escarlatina y dermatitis perianal), 5 en portadores asintomáticos y 1 en una niña que presentaba odinofagia + febrícula. Solamente los dos SGA T 4 fueron resistentes a eritromicina.

Cronología de aislamientos e infecciones por SGA:

| T | SmaI | Apal | T | SmaI | Apal | T | SmaI | Apal | T | SmaI | Apal |
|-----|---------------|------|-----|--------------|------|-----|------------|------|-----|--------------|------|
| 28 | 5b | 11 | 13 | 31 | 31 | 4 | ND | 7 | 6 | 33 | 33 |
| ∅A: | F.A. (21-III) | | ∅A: | As (12-VI) | | | | | ∅A: | F.A. (30-XI) | |
| ∅A: | As (6-IV) | | | | | | | | | | |
| ∅A: | Odin (4-V) | | | | | | | | | | |
| #B: | F.A. (28-III) | | #B: | As (12-VI) | | #B: | As (31-X) | | | | |
| #B: | As (4-V) | | | | | | | | | | |
| #C: | D.P. (19-III) | | #C: | D.P. (12-VI) | | #C: | Esc (31-X) | | #C: | As (5-XII) | |

FA: faringoamigdalitis. As: asintomático. DP: dermatitis perianal. Esc: escarlatina. Odin: odinofagia. ND: no digerible.

Conclusiones: La caracterización completa de los aislamientos sucesivos de SGA permite distinguir si se trata de infecciones por nuevos serotipos, fallos terapéuticos o aislamientos en portadores de SGA y facilita la elección terapéutica más adecuada.

196

RESISTENCIA DE *S. PYOGENES* A LOS MACRÓLIDOS EN LAS ÁREAS DEL MARESME Y LA SELVA

A. García*, C. Gallés, A. Roca, L. Caballé, P. Hernández y A. Puig Hospital Sant Jaume de Calella y Hospital Comarcal de la Selva.

Objetivo: Determinar la sensibilidad antibiótica frente a penicilina y macrólidos de cepas de *S. pyogenes* pertenecientes a una población pediátrica y adulta de la zona del Maresme y la Selva.

Material: 68 cepas (30 provenientes de exudados faríngeos, 15 de origen cutáneo y 23 de otras localizaciones) aisladas de 50 niños y 18 adultos.

Método: Sensibilidad antibiótica frente a la penicilina, eritromicina y clindamicina por el método de disco-difusión de Kirby-Bauer, así como por el método de E-test. La diferenciación fenotípica de las cepas resistentes a eritromicina se hizo mediante la prueba del doble disco (eritromicina y clindamicina) en placa de agar.

Resultados: Todos los aislamientos fueron uniformemente sensibles a la penicilina y la clindamicina, mientras que 12 de ellos (17,6%) mostraron resistencia a la eritromicina (fenotipo M). Entre las cepas de exudados faríngeos, cuatro (13,3%) fueron resistentes, mientras que entre las no faríngeas, lo fueron ocho (21%), siendo destacable que seis de ellas eran de origen cutáneo. No hubo diferencias en cuanto a sensibilidad antibiótica entre la población pediátrica y la adulta. Los resultados obtenidos por el método de difusión en disco mostraron una total concordancia con las CMI obtenidas por el método de E-test.

Conclusiones: Las cepas de *S. pyogenes* aisladas de pacientes, tanto niños como adultos, del área de la Selva y Maresme, muestran un significativo nivel de resistencia a macrólidos, especialmente entre las de origen cutáneo. Por ello, es recomendable realizar un antibiograma en los casos en que deba utilizarse este tratamiento antibiótico.

197

EVOLUCIÓN DE LA RESISTENCIA A MACRÓLIDOS EN *STREPTOCOCCUS PYOGENES* DURANTE EL PERÍODO 1997-2001

B. Orden, R. Martínez y R. Millán

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

Objetivos: Estudiar la evolución de la resistencia a macrólidos y clindamicina, así como sus fenotipos, en *S. pyogenes* aislado de pacientes extrahospitalarios, durante el quinquenio 1997-2001. Así mismo, estudiar la resistencia a otros antibióticos (penicilina, tetraciclina, ciprofloxacino, rifampicina), durante el mismo período.

Métodos: Se han evaluado 4.690 cepas de *S. pyogenes* procedentes de diferentes muestras clínicas. La determinación de la sensibilidad antimicrobiana se realizó por microdilución en caldo utilizando los sistemas PASCO (Difco) y WIDER (Soria-Melguizo) siguiendo los criterios del NCCLS. En las cepas resistentes a eritromicina se estudió la inducción de resistencia a clindamicina mediante la prueba del doble disco.

Resultados: La resistencia a eritromicina fue de 28,3% en 1997, alcanzó un pico máximo en 1998 (35,6%) y desde entonces ha ido descendiendo paulatinamente hasta llegar al 20,8% en los primeros 10 meses de 2001. La resistencia a clindamicina fue de 3,4% en 1997; 2,1% en 1998; 3,4% en 1999; 7,7% en 2000 y 8,9% en los primeros 10 meses de 2001. La resistencia a tetraciclina osciló entre 7,5% en 1999 y 13,7% en 2000. Las cepas con sensibilidad disminuida a ciprofloxacino han ido aumentando desde 0,5% en 1997 hasta 10,7% en los primeros 10 meses de 2001. Únicamente 6 cepas (0,2%) han sido resistentes a rifampicina.

Conclusiones: Desde el año 1998 asistimos a un descenso significativo de las cepas de *S. pyogenes* resistentes a eritromicina al mismo tiempo que aumenta el porcentaje de las cepas con resistencia MLS en detrimento de las cepas con fenotipo M. Desde 1997 existe también un incremento progresivo de las cepas con sensibilidad disminuida a ciprofloxacino.

Sesión 10

Infecciones por parásitos

198

PALUDISMO GRAVE: EPIDEMIOLOGÍA, EVOLUCIÓN, TRATAMIENTO Y COMPLICACIONES

M.E. Moreno, M.A. Mateo*, R. López-Vélez, I. Pujol*, M. Uriarte, E. Bermúdez y S. Moreno
Servicios de E. Infecciosas y *M. Intensiva. H. Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivo: Describir las características clínicas y evolutivas de la infección grave por *P. falciparum*.

Métodos: Estudio retrospectivo y descriptivo de los casos de malaria por *P. falciparum* que precisaron ingreso en la UVI médica entre enero de 1996 y enero de 2001.

Resultados: 5 casos. Edad media 38 años (33-52), todos varones. Todos habían realizado viajes a zonas endémicas y ninguno realizó quimioprofilaxis de forma correcta. El motivo de ingreso en UVI fue el bajo nivel de conciencia, junto a otras alteraciones neurológicas. *Alteraciones analíticas:* El nivel de parasitación fue muy variable, entre un 3% y > 20%. El 100% presentaba elevación de GOT/GPT, un 80% trombopenia, 60% alteración de la función renal, y hasta un 40% anemia y/o alteraciones de la coagulación. *Manifestaciones clínicas:* cefalea en el 80%, crisis comiciales el 20%, así como dolor abdominal o diarrea. *Complicaciones:* 3 pacientes desarrollaron FRA, otro presentó fallo hepático con acidosis láctica y un último paciente sufrió un infarto cerebral. *Tratamiento:* Todos recibieron formiato de quinina i.v. (dosis de carga: 20 mg/kg y luego dosis de 10 mg/kg/8 h) asociado a clindamicina o doxiciclina a dosis habituales. En la mayoría de los pacientes pudo continuarse con tratamiento oral en las 48-72 horas siguientes. Evolución: La estancia media fue de 5 días. Cuatro de los pacientes evolucionaron de forma favorable sin secuelas, y sólo uno de ellos presentó una hemiparesia izquierda residual como consecuencia de un infarto cerebral.

Conclusiones: El paludismo sigue siendo una infección endémica de países tropicales. Se está viendo un aumento de la incidencia en los viajeros a dichas zonas, debido a mal o nulo cumplimiento de las pautas de quimioprofilaxis. El bajo nivel de conciencia es la causa más frecuente de ingreso en UVI. La quinina i.v. sigue siendo el tratamiento de elección para la malaria por *P. falciparum* complicada. La respuesta al tratamiento se asocia a un buen pronóstico y a una buena evolución, con un bajo índice de complicaciones.

199

MALARIA IMPORTADA Y SU DIAGNÓSTICO: UTILIDAD DE LA PCR

J.M. Marimón, M.J. Etxeberria, J.M. García-Arenzana, M. Montes y M. Alkorta
Servicio de Microbiología. Hospital Donostia, San Sebastián.

Introducción: En ocasiones, la baja parasitación en infecciones por *Plasmodium* spp complica el diagnóstico especialmente en zonas no endémicas, siendo difícil contar con per-

sonal entrenado. En este contexto la utilidad de la PCR se ve incrementada.

Material y métodos: La sangre se recogió en tubo con EDTA y se analizó por microscopía óptica (M.O.). Se lisaron 50 µl de la misma sangre y tras centrifugación se extrajo el DNA hirviendo el sedimento en presencia de los *primers*. La PCR se realizó de acuerdo a la seminested-multiplex PCR descrita por J.M. Rubio et al. (J Clin Microbiol 1999;37:35-8).

Resultados: Desde mayo a noviembre de 2001 se investigaron 103 pacientes (124 muestras): 23 eran viajeros a zonas de riesgo (40 muestras), 6 eran naturales de zonas de riesgo (10 muestras) y 74 eran controles negativos, sólo estudiados por PCR (pacientes aquejados de otras enfermedades y no tenían historia de viaje reciente a zonas de malaria endémica). Todos los controles negativos resultaron negativos por PCR. En total hubo 10 pacientes con infección por *Plasmodium* spp.: 8 viajeros (6 *P. falciparum* y 2 *P. vivax*) y 2 naturales de Guinea Ecuatorial (2 *P. falciparum*). En 4 pacientes parasitados con *P. falciparum* se observaron resultados discrepantes entre las dos técnicas. Dos pacientes tratadas con cloroquina y halofantrina presentaron PCR (+) y M.O. (-). Otros dos pacientes (una viajera tratada con artesunato y una mujer Guineana sin tratamiento) presentaron una primera muestra PCR (+) y M.O. (-), mientras que las segundas muestras (a las 3 y 6 semanas respectivamente) fueron positivas por ambas técnicas. De las 15 muestras enviadas como controles de la infección (rango 1-57 días) 7 fueron negativas por ambas técnicas (3-57 días), 7 positivas sólo por PCR (1-6 días) y 1 positiva por ambas técnicas (2 días).

Conclusiones: La PCR mostró una mayor sensibilidad que la M.O. en el diagnóstico de la malaria. Se precisan más estudios para poder interpretar el valor de esta PCR tras un tratamiento antimalárico.

200

PALUDISMO IMPORTADO

(ENERO 1996-15 NOVIEMBRE 2001): 467 CASOS

S. Puente*, M. Subirats*, A. Benito**, M. Martínez*, J.M. Rubio**, M. Lago* y J.M. González-Lahoz*

*Hospital Carlos III y **Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

Objetivos: Describir 467 casos de paludismo, en pacientes de más de 15 años, atendidos en la Sección de Medicina Tropical del Hospital Carlos III del 1 de enero de 1996 al 15 de noviembre de 2001.

Métodos: El diagnóstico se hizo por la demostración de parasitación por las diferentes especies de *Plasmodium* por microscopía (gota gruesa-extensión sanguínea) o por PCR.

Resultados: Fueron diagnosticados 467 casos de paludismo, yendo en aumento cada año: 45 en 1996 y 1997, 80 en 1998, 82 en 1999, 110 en 2000 y 105 en lo que va de 2001. Edad media de los pacientes: 40 años (16-79). Sexo: 239 varones y 228 mujeres. Las especies fueron: *P. falciparum* (F) 343 (73,4%), *P. ovale* (O) 48 (10,2%), *P. malariae* (M) 29 (6,2%), *P. vivax* (V) 18 (3,8%), F + M 12 (2,5%), F + O 9 (1,9%), F + V 2 (0,4%), O + M 1 (0,2%), V + M 1 (0,2%) y Psp 4 (0,8%). El número total de viajeros fue de 266 (141 nacidos en España, 9 en otros países europeos, 6 en Latinoamérica y 2 en Asia. Otros 108 viajeros eran inmigrantes con residencia en España: 85 de Guinea Ecuatorial y 23 de otros países). El número total de personas residentes en zona endémica, que habían visitado España, fue de 201 (170 de Guinea Ecuatorial, 28 de otros países africanos, 2 de América Latina y 1 de Asia). 22 pacientes, con muy baja parasitemia, fueron diagnosticados de esplenomegalia malárica hiperreactiva.

Conclusiones: El paludismo importado está siendo más frecuente en nuestro medio últimamente. La mayoría de los casos diagnosticados en nuestro Centro procede de África Subsahariana, principalmente de Guinea Ecuatorial. Los viajeros a zonas endémicas deben ser asesorados sobre las medidas preventivas

201

PALUDISMO COMO CAUSA DE ANEMIA Y FIEBRE EN INMIGRANTES AFRICANOS Y SU FRECUENCIA EN ASINTOMÁTICOS

M.C. Turrientes, H. Huerga, M. Barreno, S. de la Fuente, A. Benito* y R. López-Vélez

*Medicina Tropical y Parasitología Clínica. Hospital Ramón y Cajal. Madrid. *Parasitología, I.S. Carlos III. Madrid.***Objetivos:** Determinar la frecuencia de paludismo en inmigrantes del África Sub-Sahariana asintomáticos, así como su implicación en los casos de anemia y fiebre.**Métodos:** Estudio retrospectivo (enero 1989-diciembre 1999) en 790 africanos. El diagnóstico de paludismo se realizó por técnica de frotis/gota gruesa. A partir de enero de 1998, en casos de alta sospecha de enfermedad con frotis/gota gruesa negativos o en sujetos en los que no se pudo determinar la especie de *Plasmodium* se efectuó PCR. Para análisis estadístico se empleó hoja de cálculo específica (Excel, Microsoft Office 97).**Resultados:** El 11,2% (89/790) de los inmigrantes estaban asintomáticos, el 15,9% (126/790) tenían anemia y el 31,8% (251/790) padecían fiebre. Se encontró parasitación por *Plasmodium* en el 13,5% (12/89) de los asintomáticos, en el 15,9% (39/126) de los que presentaban anemia y en el 31,8% (90/251) de los que padecían fiebre. La presencia de anemia tuvo para el paludismo un valor predictivo positivo (VPP) del 31% (IC = 22,9%-39%) y un valor predictivo negativo (VPN) del 86,4% (IC = 83,8%-89%), encontrándose un cociente de probabilidades positivo (CPP) del 2,30 (IC = 1,66-3,19) y un cociente de probabilidades negativo (CPN) del 0,80 (IC = 0,70-0,92). La presencia de fiebre tuvo para el paludismo un VPP del 35,9% (IC = 29,9%-41,8%) y un VPN del 92,8% (IC = 90,6%-95%), encontrándose un CPP del 2,86 (IC = 2,40-3,42) y un CPN del 0,40 (IC = 0,30-0,52).**Conclusiones:** En inmigrantes procedentes del África Sub-Sahariana asintomáticos o que presenten anemia o fiebre es frecuente que estén parasitados por *Plasmodium*, por lo que es recomendable incluir el paludismo en el diagnóstico diferencial de estos síndromes.

202

IMPLICACIONES DE LA PRESENCIA DE LEISHMANIA EN JERINGUILLAS USADAS POR ADICTOS A DROGAS POR VÍA PARENTERAL (ADVPs)I. Cruz, M. A. Morales, I. Noguer, A. Rodríguez y J. Alvar
*Servicio de Parasitología, CNM, Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda, Madrid.*En los países de la cuenca mediterránea, los ADVPs representan entre el 50 y el 92% de los casos de coinfección por VIH/*Leishmania*. Se ha propuesto la hipótesis de que el hábito de compartir jeringuillas entre los ADVPs juega un papel específico en la transmisión de *Leishmania*, sugiriendo la existencia de un ciclo artificial, epidémico y antroponótico mantenido entre ADVPs, en el cual las jeringuillas sustituirían al vector flebotomo.Para apoyar esta hipótesis se estudiaron dos grupos de jeringuillas (125 y 154), usadas por ADVPs recogidas en dos distintas localizaciones geográficas de Madrid. La detección de *Leishmania* en estas muestras se llevó a cabo mediante dos técnicas diferentes de *nested* PCR, dirigidas a amplificar distintas regiones del genoma de *Leishmania* (minicírculos de ADN del kinetoplasto y del gen ARN 18S). Se llevó a cabo la caracterización molecular de los aislados mediante RFLP del producto de la PCR que amplifica minicírculos del kinetoplasto. Ambas PCRs mostraron una concordancia del 100%, detectando *Leishmania* en 65 de las jeringuillas del primer grupo y en 54 del segundo. La caracterización molecular de las muestras positivas del primer grupo rindió un

patrón de RFLP diferente y único en 53 de ellas, mientras que las 12 restantes se dividían en tres grupos asociados a un patrón distinto cada uno.

El detectar *Leishmania* en las muestras estudiadas apoya la hipótesis de que el hábito de compartir jeringuillas entre ADVPs puede actuar como mecanismo artificial de transmisión de la leishmaniasis. El hecho de encontrar patrones de RFLP comunes entre algunas de las muestras analizadas explicaría la propagación de ciertos clones de *Leishmania* entre ADVPs, que se transmitirían al compartir las jeringuillas.

203

DETECCIÓN DE LEISHMANIA EN CENTRIFUGADOS DE ORINA DE PACIENTES COINFECTADOS POR VIH/LEISHMANIAI. Cruz, M.A. Morales, C. Chicharro, C. Cañavate y J. Alvar
*Servicio de Parasitología, CNM, Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda, Madrid.*A principio de los años 30, investigaciones sobre la leishmaniasis visceral concluyeron que se podían encontrar cuerpos de Leishman-Donovan en fluidos corporales de enfermos de kala-azar, por ejemplo en orina, heces, semen y secreciones nasales y faríngeas. En pacientes VIH+, *Leishmania* aparece ocasionalmente en otros tejidos distintos al sistema retículo-endotelial. Basándonos en este hecho, estudiamos mediante dos diferentes técnicas de PCR el potencial diagnóstico de los centrifugados de orina.Se analizaron centrifugados de orina de 8 pacientes coinfectados por VIH/*Leishmania* mediante dos métodos de *nested* PCR, cada uno dirigido a amplificar diferentes blancos del genoma de *Leishmania* (gen del ARN 18S y minicírculos del ADN de kinetoplasto). El ADN de *Leishmania* se detectó en la orina de 5 pacientes. El análisis isoenzimático reveló que los pacientes en cuya orina fue detectada *Leishmania* estaban infectados por cepas causantes de leishmaniasis visceral en enfermos inmunocompetentes, mientras que los pacientes en cuya orina no se detectó *Leishmania* se encontraban infectados por cepas causantes de leishmaniasis cutánea en pacientes inmunocompetentes.Este hallazgo nos permite pensar que el análisis mediante PCR de centrifugados de orina provenientes de pacientes VIH+ infectados por cepas viscerotrópicas de *Leishmania*, puede ser interesante para el seguimiento de estos enfermos, ya que la recogida de la muestra no es un procedimiento invasivo, como el clásico estudio del aspirado de médula ósea.

204

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LEISHMANIASIS VISCERAL (LV) Y CORRELACIÓN ENTRE LAS TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS UTILIZADASP. Merino, R. Andrade, I. Bonilla, A. Arribi, C. Arroyo y J. Picazo
*Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.***Objetivos:** Hemos estudiado durante el período enero-2000 a octubre-2001 los casos de LV en nuestro hospital, describiendo la utilización de las técnicas de diagnóstico microbiológico de LV y las características clínico-analíticas de los pacientes afectados.**Método:** Se han recogido retrospectivamente datos clínicos y analíticos de 14 casos diagnosticados de LV en el período de estudio: edad, sexo, tipo de inmunodepresión (ID), clínica e infección concomitante. Además de datos analíticos se recogió la tinción Giemsa (G) de médula ósea (MO), cultivo en NNN de MO y prueba serológica mediante IFI**Resultados:** La edad media fue 39,8 años y el 57% de los casos son varones. En todos los casos excepto en uno eran pacientes con una o más causas de inmunodepresión: 6 VIH positivo, tratamiento corticoideo previo, 3 VHC, 3 VHB, 7

otras causas de ID (2 neoplasias, 2 DM II, 1 alcohólico, 1 RNPT). El signo más frecuente era hepatoesplenomegalia y el síntoma fiebre (100% de los casos). Se evidenció diarrea en un 28,6%. En el 43% existía una infección concomitante. De los pacientes estudiados 10 presentaban pancitopenia y el resto leucopenia. Para el diagnóstico microbiológico se pidió en 3 ocasiones exclusivamente G de MO y en 3 IFI, siendo en las 6 ocasiones el resultado positivo en ambos casos. En las 8 restantes se realizaron las dos pruebas siendo el resultado positivo en 5 ocasiones. En las 3 restantes el resultado fue discrepante: 1 con G positivo e IFI negativo, 2 con G negativo e IFI positivo. Las 11 MO teñidas con G fueron cultivadas en NNN siendo el cultivo negativo en todos los casos.

Conclusiones: La leishmaniasis visceral es una enfermedad endémica en nuestro medio que afecta fundamentalmente a pacientes inmunodeprimidos, sobre todo VIH, debiendo sospecharse en zona endémica. Parece conveniente que las técnicas microbiológicas disponibles sean utilizadas en su totalidad para el diagnóstico de LV.

205

UTILIDAD DEL CULTIVO DE SANGRE PERIFÉRICA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA LEISHMANIOSIS VISCERAL EN PACIENTES VIH POSITIVOS Y VIH NEGATIVOS

C. Riera¹, M. Gállego¹, R. Fisa¹, E. Ribera², I. Gasser³, R. Angrill⁴, T. Juncosa⁵, S. Tebar¹ y M. Portús¹

¹Laboratorio de Parasitología, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona. ²Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospitals Vall d'Hebron, Universitat Autònoma, Barcelona. ^{3,4,5}Serveis de Microbiologia dels Hospitals Vall d'Hebron, Sant Camil y Sant Joan de Déu. Barcelona.

Objetivo: Comparar la utilidad del cultivo de sangre periférica (SP) versus el cultivo de aspirado medular (AM) para el diagnóstico de la leishmaniasis visceral (LV).

Material y métodos: Se estudian 36 episodio de LV correspondientes a 31 adultos VIH+ y 5, 2 niños y 3 adultos, VIH-. De cada paciente se recogieron simultáneamente 0,5 ml de AM y 5 ml de SP. La capa leucocitaria de la muestra de sangre se separó mediante gradiente de Ficoll[®]. Las muestras se cultivaron en medio de Schneider suplementado y se determinó el tiempo de crecimiento del parásito en cada una de ellas.

Resultados: El cultivo de SP fue positivo en 32/36 y el de AM en 33/36 muestras. En 5 episodios los resultados de los cultivos de SP y AM no coincidieron: en 3 casos el cultivo de AM fue positivo y el de SP negativo y en otros 2 el cultivo de SP fue positivo y el de AM negativo. El tiempo necesario para obtener cultivos positivos fue, en general, menor para el AM (media de 8 días, entre 4 y 25) que para la SP (media de 18 días, entre 7 y 35).

Conclusiones: El cultivo de SP puede ser utilizado como técnica de rutina para el diagnóstico de la LV ya que su sensibilidad no difiere de la obtenida con el AM. Por otra parte la facilidad de obtención de la muestra la hace adecuada para el control evolutivo de los pacientes sin necesidad de recurrir a muestras de obtención más invasiva.

206

AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS GENES CPA, CPB Y CPC QUE CODIFICAN CISTEÍNAS PROTEÍNASAS EN LEISHMANIA INFANTUM

M.I. Jiménez*, H. Denise**, G.H. Coombs***, L.M. González*, J. Alvar* y J.C. Mottram**

*ISCI (Madrid). **WCMP y ***IBLS, Glasgow (UK).

Las cisteínas proteinasas (CPs) han demostrado jugar un papel esencial en la patogénesis de las infecciones por protozoos parásitos. Las CPs presentes en *Leishmania* son análogos

de las catepsinas L y B presentes en mamíferos y a las que se incluye dentro de la familia de la papaína. Los trabajos previos de delección de los genes CPA, CPB y CPC que codifican las CPs en *L. mexicana*, mediante rotura génica y posterior recombinación homóloga, utilizando construcciones de ADN conteniendo las secuencias necesarias y genes de resistencia a antibióticos, han demostrado que estos genes son factores de virulencia y que los mutantes generados nulos para los mismos pueden tener potencial como vacunas vivas atenuadas.

En este trabajo hemos aislado y caracterizado los genes CPA, CPB y CPC que codifican las CPs en *L. infantum* como paso previo al desarrollo de mutantes en esta especie de *Leishmania*. Como paso inicial se construyó una librería en el cósmido SuperCosI a partir de ADN genómico de una cepa clonada de *L. infantum*, JPCM5 (MHOM/ES/98/LLM-877). Posteriormente se realizó el cribado de la misma utilizando fragmentos de PCR específicos para cada uno de los genes. Los clones positivos fueron mapeados mediante enzimas de restricción y posterior hibridación. Los fragmentos específicos fueron clonados y posteriormente secuenciados. Con el fin de estudiar la organización genómica de los tres genes, se realizaron una serie de Southern-blots con ADN genómico de la cepa de *L. infantum* JPCM5 digerido con diferentes enzimas de restricción y posterior hibridación con sondas específicas.

CPA y CPC son genes de una sola copia. CPB es un gen multicopia en unidades en tandem entre las que existe cierta heterogeneidad en la secuencia aminoacídica.

207

EVOLUCIÓN DEL GRADO DE AVIDEZ DE LOS ANTICUERPOS IgG EN LA INFECCIÓN POR TOXOPLASMA GONDII

M. Rodríguez, R. Cimadevilla, A. Rodríguez-Guardado, M. de Oña, M. Villar, J. Ordás y A. Martínez

Microbiología I. Hospital Central de Asturias. Oviedo.

Introducción: Los anticuerpos IgG son de baja avidez en la respuesta inicial a la infección; posteriormente comienzan a sintetizarse IgG de alta avidez. Se ha publicado que la presencia de anticuerpos de alta avidez excluye una infección aguda en los tres o cuatro meses previos. Esta característica se ha utilizado para el diagnóstico serológico de la infección reciente por *T. gondii*, especialmente en embarazadas.

Objetivo: Valorar la evolución de la avidez de IgG anti-*Toxoplasma gondii* en pacientes con seguimiento serológico.

Métodos: Entre enero de 1998 y diciembre de 2000 se analizaron 46 muestras de suero de 19 pacientes (2,5 muestras/paciente) con un periodo de seguimiento medio de 6 meses (rango: 3-17 meses). Catorce pacientes eran gestantes y 5 MNI. Se utilizó la prueba de avidez VIDAS (Bio-Mérieux) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Resultados: En la serie de muestras estudiadas el cambio de baja a alta avidez de IgG ocurrió en siete pacientes (36%), que correspondían a cinco MNI (100%) y a 2 gestantes (14%). El cambio en la avidez en estos casos se objetivó a los 6 meses de media (rango: 3-11 meses). En 12 pacientes (63%) la IgG continuó siendo de baja avidez a pesar de haber transcurrido una media de 6,5 meses entre la extracción de las muestras (rango: 4-17 meses).

Conclusiones: Los anticuerpos IgG de alta avidez, especialmente en gestantes, tardan mucho tiempo en detectarse. Los anticuerpos IgG de baja avidez no permiten diagnosticar correctamente una infección reciente en una única muestra de suero; es preciso valorar los resultados en el contexto clínico, además de realizar un seguimiento serológico y valorar otros parámetros (IgM, IgA, AC/HS). Cuando se detecta IgM en el primer trimestre de la gestación, la presencia de IgG de alta avidez es de gran utilidad para descartar una infección reciente. Se evitan de este modo tratamientos innecesarios y técnicas diagnósticas más agresivas.

208

UTILIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE PCR EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA

I. Fuentes¹, C. Ramírez¹, M. Rodríguez¹, C. Ladrón de Guevara², C. Pérez³, A. Fuertes⁴ y F. del Castillo²

¹ISCIII (Madrid). ²Hospital La Paz. ³C.E.P. Carabanchel.

⁴Hospital 12 de Octubre. Madrid.

La infección primaria por *Toxoplasma gondii* en la mujer embarazada puede originar una infección fetal vía transplacentaria. Los neonatos infectados presentan síntomas o son asintomáticos y pueden posteriormente desarrollar graves secuelas. Es de gran importancia un diagnóstico temprano, tanto prenatal como postnatal, para el tratamiento adecuado. El **objetivo** del estudio se centró en analizar la utilidad de la técnica PCR para la detección de *T. gondii*, y la valoración de las distintas muestras para el diagnóstico de la toxoplasmosis congénita, dados los problemas presentados en el diagnóstico serológico por la posibilidad de persistencia de IgM específica durante años en la gestante y la presencia de IgM sólo en el 75% de los neonatos infectados.

Material y métodos: Diagnóstico antenatal: Se analizaron muestras de sangre, orina y líquido amniótico de gestantes con sospecha de posible infección primaria. Diagnóstico postnatal: se analizaron muestras de sangre, orina, líquido cefalorraquídeo (lcr) de recién nacidos de madres con posible infección primaria durante la gestación. Tras la extracción del ADN de la muestra se realizó la técnica de PCR-nested para la amplificación del gen B1 del parásito.

Resultados: La sensibilidad de la técnica permitió la detección del ADN de un parásito en la muestra. Se estudiaron 624 (180 líquido amniótico, 240 sangre, 204 orina) muestras de gestantes obteniéndose 13 casos positivos, y 504 (234 sangre, 162 orina, 108 lcr) muestras de recién nacidos obteniéndose 42 casos positivos.

Conclusiones: La técnica PCR es una técnica útil, específica y sensible para la detección directa del parásito, pero hay que considerar las limitaciones de distribución de carga parasitaria según momento de infección y tipo de muestra.

209

INFECCIÓN POR TOXOPLASMA. SITUACIÓN EPIDEMIOLÓGICA EN 13.463 GESTANTES DE LA PROVINCIA DE BARCELONA

C. Muñoz, I. Sanfeliu, L. Viñas, J. Bosch, C. Guardà, T. Juncosa y J. Lite por el Grup de Microbiologia per l'estudi d'infeccions de transmissió vertical

Hospital de la Sta. Creu i St. Pau. Microbiologia. Barcelona.

Objetivos: 1) Conocer la prevalencia e incidencia de la toxoplasmosis en mujeres embarazadas atendidas en 7 centros de la provincia de Barcelona durante el año 1999, y 2) conocer la incidencia de infección congénita en las toxoplasmosis agudas diagnosticadas en este periodo.

Métodos: Se estudió la presencia de IgG anti-toxoplasma en 13.463 mujeres embarazadas en el año 1999 visitadas en 6 hospitales y un centro de asistencia primaria. En las gestantes seropositivas se determinó también la presencia de IgM específicas. Cuando éstas resultaron positivas, y en función de la disponibilidad del laboratorio, se incorporaron otros marcadores serológicos (IgA anti-toxoplasma, avidéz de las IgG). Se consideró toxoplasmosis aguda *confirmada* cuando se detectó: seroconversión o un incremento significativo del título de anticuerpos y como *probable* si los niveles de IgG e IgM fueron altos, en presencia de IgG de baja afinidad y/o IgA positivas. El diagnóstico de laboratorio de infección congénita se realizó: prenatalmente por PCR detectando el DNA de toxoplasma en líquido amniótico o, posnatalmente por serología.

Resultados: La seroprevalencia de la toxoplasmosis en las gestantes fue del 27%. Se detectaron IgM en el 2,3% de las

seropositivas (83/3.635). Se diagnosticaron 8/13.467 infecciones agudas (0,06); 7 por seroconversión y una por incremento significativo del título de anticuerpos. En 4 casos se confirmó la infección congénita; en 2 ocasiones por PCR en líquido amniótico, en una por PCR y serología del recién nacido (incremento de IgG al sexto mes de vida) y en otra por IgM positivas del neonato.

Conclusiones: 1) el 73% de las gestantes fueron seronegativas en la 1ª serología, 2) la fiabilidad de las IgM como marcador de infección aguda fue baja (90,4% residuales), 3) la incidencia de toxoplasmosis aguda fue del 0,06%, 4) la infección fetal tuvo lugar en el 50% de las primoinfecciones maternas observándose el mayor riesgo de transmisión cuando la toxoplasmosis se adquirió en el 3er trimestre del embarazo (3/4).

210

APLICACIÓN DE TÉCNICAS DE TIPADO MOLECULAR A CRYPTOSPORIDIUM AISLADOS DE POBLACIÓN INFANTIL

M.T. Llorente, A. Clavel, M. Varea, J. Castillo, S. Olivera, J. Sahagún, J. Fleta, M.C. Rubio y R. Gómez-Lus

Dpto. Microbiología. Fac. de Medicina. Zaragoza.

Objetivos: *Cryptosporidium parvum* ha sido considerada, hasta hace poco tiempo, el único agente causal de criptosporidiosis humana. Otras especies de *Cryptosporidium* como *C. felis*, *C. meleagridis* y un genotipo canino, se han identificado en infecciones humanas, tanto en individuos inmunodeprimidos como en inmunocompetentes. Nuestro objetivo es el tipado epidemiológico de *Cryptosporidium* de origen humano utilizando dos técnicas de genotipado diferentes.

Material y métodos: Hemos estudiado muestras de heces de niños del área urbana y rural de Zaragoza, mantenidas a 4 °C sin conservantes, positivas a *Cryptosporidium* por técnicas convencionales. Tras la extracción de ADN, se han realizado técnicas de PCR-RFLP por dos protocolos:

–Amplificación del gen de la proteína de la pared del oocisto (COWP).

–Amplificación del gen de la subunidad 18 S del ARNr (ssu rRNA).

Resultados: Se han genotipado 50 muestras, 28 de área rural (56%) y 22 de área urbana (44%), obteniendo los siguientes resultados:

–*C. parvum* genotipo humano: 33 muestras (66%).

–*C. parvum* genotipo bovino: 16 muestras (32%).

–*C. meleagridis*: 1 muestra (2%). *C. meleagridis* se encuentra habitualmente en aves. Existen muy pocos casos en la literatura de infección en inmunocompetentes y es el primer caso en nuestro país. De las 16 muestras con genotipo bovino, 11 pertenecían a niños de zonas rurales, un 69%. En las muestras de área rural, un 39% pertenecían al genotipo bovino, mientras que en las de área urbana solo un 23% correspondían a este genotipo. Los resultados con las dos técnicas han sido coincidentes.

Conclusiones: De las muestras estudiadas hemos encontrado que: 1) El genotipo 1 de *C. parvum* es el más frecuente. 2) El genotipo 2 de *C. parvum* predomina en nuestro medio en áreas rurales. 3) Aunque con poca frecuencia otras especies de *Cryptosporidium*, como *C. meleagridis*, pueden causar infección en humanos.

211

CRYPTOSPORIDIUM SPP EN POBLACIÓN INFANTIL INMUNOCOMPETENTE DE GIPUZKOA

M.J. Echeverría, G. Cilla, E. Gil, M. Alkorta y E. Pérez-Trallero
Servicio de Microbiología, Hospital Donostia. San Sebastián.

Objetivo: Recientemente se ha insistido en el papel de *Cryptosporidium spp* en brotes de enteritis relacionados con

el agua de bebida. Para estimar su incidencia en la enteritis de niños inmunocompetentes en nuestro medio y valorar un método diagnóstico alternativo a la microscopía, realizamos este estudio. Paralelamente se estudió la presencia de *Giardia lamblia*.

Material y métodos: Durante 4 meses (marzo-junio 2001) las heces de consistencia líquida o pastosa de niños ≤ 14 años, con diagnóstico de enteritis y aquellas (cualquier consistencia) en las que se solicitaba estudio de parásitos, fueron procesadas por examen en fresco y tinción de auramina (concentración formol-acetato de etilo y formol 10%, respectivamente) y prueba de EIA (Prospect® *Giardia/Cryptosporidium* Microplate Assay) para detección de antígeno específico. El estudio fue ciego para ambos métodos.

Resultados: Se estudiaron 303 muestras de heces de 303 niños (126 de ≤ 1 año). Resultaron positivos para *Cryptosporidium* o *Giardia* 19 enfermos (6,3%), no detectándose infecciones mixtas. *Cryptosporidium* fue detectado en 7 casos, todos ellos niños menores de 3 años con enteritis y la mayoría (5) en ≤ 1 año de edad (5/126, 4%). *Giardia* fue detectada en 11 niños, 6 de ellos ≤ 1 año (4,8%). La prueba EIA no diferencia entre una y otra etiología y tan sólo fue positiva en 1 enfermo que no fue detectado por microscopía. Por el contrario, en 5 de 18 casos (27,8%) la microscopía fue positiva y negativo el EIA. La sensibilidad del EIA para *Giardia* fue muy buena, detectando todos menos uno de los positivos por microscopía, pero mala en el caso de *Cryptosporidium*, no detectando 4 de los 7 casos positivos.

Conclusiones: 1) Debido a la moderada incidencia de *Cryptosporidium* y *Giardia* en nuestro medio, estas etiologías deberían ser sistemáticamente investigadas en el lactante con enteritis. 2) La baja sensibilidad del EIA para detectar las infecciones por *Cryptosporidium spp* en población infantil inmunocompetente y su no diferenciación de *Giardia lamblia*, hace poco aconsejable su uso en este contexto.

212

EVALUACIÓN DE UN NUEVO SISTEMA ECOLÓGICO DE FIJACIÓN-CONCENTRACIÓN DE HECES EN PARASITOLOGÍA

J. Colomina, J. Villar, G. Esteban* y A. Guerrero
Microbiología, Hospital La Ribera, Alcira.
*Parasitología, Facultad de Farmacia, Valencia.

Objetivo: El desarrollo de reactivos de laboratorio que no contengan productos tóxicos constituye una consecuencia directa de la legislación actual en esta materia. Se evalúa un nuevo método de conservación-concentración de heces (Copro-pack-III BIOFIX) que no contiene formol ni mercurio como fijadores.

Método: Se realizó un estudio comparativo utilizando como *gold standard* un sistema que emplea formol (SAF). La técnica de concentración utilizada fue la del formol-éter. Se establecieron las siguientes estrategias: 1) A partir de heces frescas no conservadas (n = 200): a) estudio parasitológico (EP) directo, b) EP tras concentración con sistema SAF y c) EP utilizando Copropack-III BIOFIX. 2) A partir de una colección de muestras fecales positivas (protozoos y helmintos): a) detección de falsos negativos, b) evaluación del proceso de extracción mediante recuento de formas parasitarias, c) interferencia con técnicas de diagnóstico inmunológico (Meridian Diagnostics). 3) Demostrar, mediante coprocultivo, la no viabilidad de enteropatógenos bacterianos en el sistema Copropack-III BIOFIX.

Resultados: No se observó ninguna discrepancia en el EP de los concentrados fecales. No se detectaron falsos negativos con las muestras positivas procedentes de la colección. El estudio cuantitativo mostró una buena correlación con respecto al *gold standard*. El nuevo sistema se mostró compati-

ble con la técnica inmunológica ensayada. El estudio de bioseguridad demostró la inviabilidad de bacterias patógenas intestinales.

Conclusiones: Copropack-III BIOFIX es un método fiable, reproducible, que no contiene productos tóxicos y que puede reemplazar a los convencionales sistemas de conservación-concentración, adaptándose así a las exigencias de la normativa vigente.

213

GASTO Y CARGA ASISTENCIAL EN EL DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO EN LA ATENCIÓN SANITARIA DEL INMIGRANTE

M.C. Turrientes, H. Huerga, M. Barreno, S. de la Fuente y R. López-Vélez

Medicina Tropical y Parasitología Clínica. Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: Evaluar el gasto y la carga asistencial en el diagnóstico parasitológico derivado de la atención sanitaria del inmigrante.

Material y métodos: Estudio retrospectivo realizado desde enero-1989 a diciembre-1999. 989 pacientes estudiados. Se incluyeron las siguientes pruebas diagnósticas: 1) *Parásitos intestinales*: Concentración de formol-éter; tinción Kinyoun; tinción tricrómico modificado; test de Graham; cultivo de larvas en heces; fresco + tinción Kinyoun + tinción tricrómico para muestras digestivas no fecales. 2) *Paludismo*: frotis/gota gruesa; PCR. 3) *Filarias cutáneas*: pellizco cutáneo. 4) *Filarias sanguíneas*: lisis-centrifugación. 5) *Parásitos sanguíneos y tisulares*: Giemsa + cultivo para muestras orgánicas no digestivas. 6) *Schistosoma haematobium*: orina de 24 h. 7) *Serologías*. 8) *Observación microscópica de ectoparásitos y otros*. 9) *Envíos*. Se utilizaron los indicadores de Gestión Precio del Servicio de Microbiología del Hospital Clínico Universitario de Valencia (Generalitat Valenciana. Conselleria de Sanitat. SIE. Atención especializada. Centro Gestor 0463), correspondientes al primer trimestre del año 2000.

Resultados: El coste global del diagnóstico parasitológico se estimó en 12.053.705 pts. (33.389,76 URV), con un coste individual para cada inmigrante de 12.188 pts (33,76 URV). La atención al inmigrante representó el 9% del volumen total de muestras recibidas en la UMT.

Conclusiones: La atención al inmigrante no resulta cara y no representa una carga asistencial elevada para un laboratorio de parasitología.

214

PARÁSITOS INTESTINALES EN LA POBLACIÓN INMIGRANTE DE VALENCIA

A. Molina, J. Pemán, M. Romero, A. Valentín, A. Orero y M. Gobernado

Servicio de Microbiología, Hospital Universitario La Fe. Valencia.

Objetivos: Determinar la prevalencia de parásitos intestinales en los inmigrantes de Valencia durante los meses de mayo a septiembre de 2001.

Métodos: Se analizaron un total de 2.506 muestras de heces de otros tantos inmigrantes, procedentes de 54 países distintos, utilizando la técnica de sedimentación-concentración con formol-éter y posterior observación microscópica.

Resultados: En 847 inmigrantes (33,79%) se observó algún tipo de parásito en heces, con un índice de poliparasitación del 7,46%. El 95,75% de las muestras positivas correspondieron a formas protozoarias y el 4,25% a helmintos. La proporción de parásitos en las muestras positivas de

los países con mayor número de inmigrantes analizados (n) fue la siguiente: Colombia (828): *E. nana* 34,4%; *B. hominis* 27,8%; *E. coli* 25,8%; *G. intestinalis* 5,2%, *S. stercoralis* 2,0%. Ecuador (787): *E. nana* 37,8%; *E. coli* 27,5%; *B. hominis* 21,0%; *G. intestinalis* 4,9%, *S. stercoralis* 1,8%. Ucrania (163): *E. nana* 32,7%; *E. coli* 30,8%; *B. hominis* 23,1%; *G. intestinalis* 5,8%. Marruecos (113): *E. nana* 40,0%; *E. coli* 20,0%; *B. hominis* 15,6%; *G. intestinalis* 6,7%, *S. stercoralis* 8,9%. Rumania (113): *E. nana* 28,0%; *B. hominis* 32,0%; *E. coli* 24,0%; *G. intestinalis* 16,0%. Nigeria (95): *E. nana* 42,5%; *B. hominis* 20,0%; *E. coli* 15,0%; *G. intestinalis* 10,0%. Bolivia (77): *E. coli* 50,0%; *E. nana* 30,6%; *B. hominis* 16,7%; *G. intestinalis* 2,8%. Lituania (49): *E. nana* 28,6%; *B. hominis* 42,9%; *E. coli* 23,8%; *S. stercoralis* 4,76%. Guinea (44): *E. nana* 45,0%; *E. coli* 35,0%; *B. hominis* 10,0%; *S. stercoralis* 5,0%.

Conclusiones: Ecuador (10,3%) y Colombia (10,1%) son los países con mayor porcentaje de inmigrantes parasitados. En las muestras positivas, *E. nana* es el parásito más frecuentemente observado (35,5%), seguido de *E. coli* (27,9%) y *B. hominis* (23,2%). *G. intestinalis* se observa con mayor frecuencia los inmigrantes procedentes de Rumania (16,0%) y *S. stercoralis* en los de Marruecos (8,9%).

215

FILARIOSIS COMO CAUSA DE EOSINOFILIA Y PRURITO EN INMIGRANTES AFRICANOS Y SU FRECUENCIA EN ASINTOMÁTICOS

M.C. Turrientes, H. Huerga, S. de la Fuente, M. Barreno y R. López-Vélez

Medicina Tropical y Parasitología Clínica. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: Determinar la frecuencia de filariosis en inmigrantes del África Sub-Sahariana asintomáticos así como su implicación en los casos de eosinofilia y prurito cutáneo.

Métodos: Estudio retrospectivo (enero 1989-diciembre 1999) en 790 africanos. El diagnóstico de filariosis sanguíneas se realizó por lisis-centrifugación y el de filariosis cutáneas por pellizco cutáneo. En la oncocercosis además se utilizaron la prueba de Mazzotti y signos clínicos con resolución de los mismos tras tratamiento empírico. Para análisis estadístico se empleó hoja de cálculo específica (Excel, Microsoft Office 97).

Resultados: El 11,2% (89/790) de los inmigrantes estaban asintomáticos, el 26,7% (211/790) tenían eosinofilia y el 35% (276/790) sufrían prurito. Se encontró parasitación por filarias cutáneas en el 10,1% (9/89) de los asintomáticos, en el 55,9% (118/211) de los que presentaban eosinofilia y en el 49,6% (137/276) de los que padecían prurito. Se halló parasitación por filarias sanguíneas en el 14,6% (13/89) de los asintomáticos y en el 31,3% (66/211) de los que tenían eosinofilia. La presencia de eosinofilia tuvo para las filariosis cutáneas un valor predictivo positivo (VPP) del 55,9% (IC = 49,2%-62,6%) y un valor predictivo negativo (VPN) del 86% (IC = 83,2%-88,8%), con cociente de probabilidades positivo (CPP) del 3,77 (IC = 3,03-4,69) y cociente de probabilidades negativo (CPN) del 0,48 (IC = 0,40-0,58). La presencia de eosinofilia tuvo para la filariosis sanguíneas un VPP del 31,3% (IC = 25%-37,5%) y un VPN del 95,9% (IC = 94,2%-97,5%), con CPP del 3,54 (IC = 2,92-4,29) y CPN del 0,34 (IC = 0,24-0,48). La presencia de prurito tuvo para las filariosis cutáneas un VPP del 49,6% (IC = 43,7%-55,5%) y un VPN del 87,9% (IC = 85,1%-90,8%), con CPP del 2,93 (IC = 2,46-3,48) y CPN del 0,41 (IC = 0,33-0,51).

Conclusiones: En inmigrantes del África Sub-Sahariana asintomáticos o que presenten eosinofilia o prurito las filarias son frecuentes, por lo que es recomendable incluir su diagnóstico en el cribaje de rutina.

216

MULTIPARASITOSIS INTESTINALES EN INMIGRANTES DEL ÁFRICA SUB-SAHARIANA

M.C. Turrientes, H. Huerga, S. de la Fuente, M. Barreno y R. López-Vélez

Medicina Tropical y Parasitología Clínica. Enfermedades Infecciosas. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivo: Determinar la frecuencia de multiparasitación por parásitos intestinales en inmigrantes del África Sub-Sahariana.

Material y métodos: Estudio retrospectivo (enero-1989 a diciembre-1999) en 790 africanos (136 niños, edad \leq 15 años; 654 adultos, edad \geq 16 años). Se utilizaron: técnica de concentración de formol-éter para diagnóstico de protozoos y helmintos, tinción de Kinyoun para coccidios; tinción tricrómico modificado para *Microsporidia* y cultivo en carbón vegetal para nematodos.

Resultados: Se detectaron parásitos intestinales en el 20,1% (159/790) de los pacientes: 33,1% (45/136) niños y 17,4% (114/654) adultos, siendo más frecuentes en niños ($p = 0,000$, $\chi^2 = 16,21$, GL = 1). Se encontró parasitación por protozoos en el 11,2% (89/790) de los pacientes (14% niños y 10,7% adultos), sin diferencia significativa entre grupos etarios ($p = 0,654$, $\chi^2 = 0,90$, GL = 1) y por helmintos en el 11,2% (89/790) (26,5% niños y 8,1% adultos), más frecuentes en niños ($p = 0,000$, $\chi^2 = 36,18$, GL = 1). El 11,9% de los pacientes que padecían parasitosis intestinal presentaron coinfección por protozoos y helmintos. El 31,5% de los diagnosticados de protozoosis y el 50,6% de los diagnosticados de helmintosis presentaron coinfección.

Conclusiones: La multiparasitación intestinal es frecuente en inmigrantes africanos, siendo aconsejable realizar un examen exhaustivo en el diagnóstico para descartar su existencia en esta población.

217

MANIFESTACIONES CUTÁNEAS DE 318 CASOS DE ONCOCERCOSIS

S. Puente¹, M. Subirats¹, F. Bru³, T. Gárate², M. Rodríguez², E. Pérez-Blázquez⁴, M. Lago¹, M. Martínez¹ y J.M. González-Lahoz¹

¹Hospital Carlos III, ²Instituto de Salud Carlos III,

³Ayuntamiento de Madrid, ⁴Hospital 12 de Octubre. Madrid.

Objetivos: Describir las manifestaciones cutáneas de 318 casos de oncocercosis, en pacientes de más de 16 años, atendidos en la Sección de Medicina Tropical del Hospital Carlos III del 1 de enero de 1992 al 15 de noviembre de 2001.

Métodos: El diagnóstico se hizo por la demostración de microfilarias de *Onchocerca volvulus* en piel y/o oncocercomas, o reacción de Mazzotti positiva.

Resultados: Fueron diagnosticados 318 casos de oncocercosis. Edad media de los pacientes: 37 años (16-77). Sexo: 136 (43%) varones y 182 (57%) mujeres. 12 pacientes eran naturales de España, 296 de Guinea Ecuatorial y 10 de otros países africanos.

Las manifestaciones cutáneas detectadas fueron: prurito en 195 casos, oncodermatitis papular aguda en 10, oncodermatitis papular crónica en 57, sowda en 36, piel leopardo en 29, piel glútea liquenificada en 61, piel de pergamino en 7, edema linfático en 4 e ingles colgantes en 1.

El diagnóstico se ha realizado mediante la determinación de oncocercomas, microfilarias en piel y/o la prueba de Mazzotti, habiéndose obtenido los siguientes resultados: 1) oncocercomas en 82 pacientes, 2) microfilarias en piel de glúteos en 108, 3) microfilarias en piel de escápulas en 40, 4) microfilarias en piel de glúteos y escápulas a la vez en 89 pacientes y 5) reacción de Mazzotti en 35.

Conclusiones: La oncocercosis es una enfermedad muy frecuente en Guinea Ecuatorial, causando manifestaciones cutáneas muy molestas, muchas de ellas manifestadas años después de salir de la zona endémica, y que da lugar a serios problemas diagnósticos en la práctica médica habitual fuera de las zonas endémicas.

218

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE TENIASIS Y CISTICERCOSIS

L.M. González*, E. Montero*, E. Ferrer*, M. Rodríguez*, L.J.S. Harrison**, R.M.E. Parkhouse*** y T. Gárate*

*CNM-ISCIII, Majadahonda (España).

**CTVM-Univ. Edinburgh (Reino Unido).

***Inst. Gulbenkian, Oeiras (Portugal).

Introducción: El binomio teniasis/cisticercosis en el varón está producido por las especies *Taenia saginata* y *Taenia solium*. Mientras los dos ténidos utilizan el intestino humano para alcanzar el estado adulto, ocasionando la correspondiente teniasis, *T. solium* también puede infectarle como larva o metacestodo, provocando la cisticercosis con la neurocisticercosis como forma más grave y a veces fatal. En la actualidad, los métodos de diagnóstico de estas parasitosis presentan graves limitaciones, como la escasa especificidad y la pobre sensibilidad.

Objetivos: Una alternativa que podría mejorar esta situación sería la identificación y la caracterización de dianas moleculares únicas de los parásitos en estudio.

Material y métodos: Para conseguir dichos objetivos, y haciendo uso de técnicas de biología molecular, se han preparado genotecas genómicas y de expresión de oncosferas, metacestodos jóvenes y maduros de los ténidos, y también se han desarrollado anticuerpos monoclonales con especificidades de interés y sueros hiperinmunes frente a moléculas de valor diagnóstico potencial.

Resultados y conclusiones: De esta manera, y a través de la investigación molecular de proteínas y ácidos nucleicos de *T. solium* y *T. saginata* se han conseguido desarrollar las siguientes herramientas: 1) PCRs para el diagnóstico especie-específico de teniasis producidas por *T. solium*/*T. saginata*. 2) ELISA de captura de antígeno para el diagnóstico de cisticercosis, mediante el empleo del anticuerpo monoclonal HP10. 3) ELISA para detección de anticuerpos en cisticercosis, empleando proteínas recombinantes y péptidos derivados de los genes caracterizados.

Financiación: ISCIII-proyecto intramural (00/407), EU-INCO (IC 18 CT 950002). Becas pre y posdoctorales ISCIII y AEI.

219

CLONACIÓN DE MOLÉCULAS DE ANISAKIS SIMPLEX CON POSIBLE INTERÉS DIAGNÓSTICO

E. Rodríguez*, S. Lorenzo**, F.M. Ubeira** y T. Gárate*

*CNM, ISCIII, Majadahonda, Madrid.

**Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela.

La anisakuosis es una parasitosis producida por las especies del género *Anisakis*, y la parasitación humana se debe principalmente a la ingesta de pescado crudo o poco cocinado infestado con el tercer estadio larvario de *Anisakis simplex*. Aunque esta parasitosis tiene una alta incidencia en países como Japón, por sus característicos hábitos alimenticios, en la actualidad, en nuestro país cada día es más frecuente la publicación de casos producidos por larvas de *Anisakis simplex*, existiendo una mayor demanda de diagnósti-

co de esta parasitosis por parte de los hospitales del SNS. En cuanto al diagnóstico clínico de la enfermedad, la visualización de la larva se encuentra limitado por su localización y su grado de destrucción. Por otro lado las manifestaciones clínicas son comunes a otras alteraciones gastrointestinales, generándose además una potente respuesta alérgica. Con el objetivo de aplicar técnicas de biología molecular para la búsqueda de moléculas recombinantes de posible interés diagnóstico se ha realizado la construcción de una genoteca de cDNA de L3 de *Anisakis simplex* en el vector λ -ZAP II. Tras un cribado inicial de 2×10^5 pfu, se aislaron un total de 25 clones positivos de posible interés. Un total de 10 clones fueron posteriormente purificados y secuenciados. Las secuencias aminoacídicas deducidas obtenidas fueron sometidas al banco de datos GenBank presentando altas identidades con moléculas de interés diagnóstico y/o implicadas en la relación que se establece entre parásito-hospedador (ABA-1, Enolasa, Serpina...). Por último dichos cDNAs fueron subclonados en vectores de expresión procariota con el fin de producir las proteínas recombinantes y poder evaluar su posible valor diagnóstico y/o biológico en la anisakuosis.

Financiación: Proyecto propio ISCIII MPY 1337/01

220

TRIQUINELOSIS: DIAGNÓSTICO DE BROTES EN ESPAÑA

E. Rodríguez*, M. Rodríguez*, J. Nieto*, F.M. Ubeira** y T. Gárate*

*CNM, ISCIII, Majadahonda, Madrid.

**Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela.

La triquinelosis es una nematodosis que afecta al varón y a multitud de mamíferos, producida por las especies del género *Trichinella* y transmitida por la ingesta de carne parasitada cruda o poco cocida. Su distribución es mundial, estimándose más de 11 millones de enfermos e invirtiendo, por ejemplo la UE cada año un total de 570 millones de dólares para el control de esta zoonosis. La situación epidemiológica de la parasitosis en España se caracteriza por la prevalencia de la triquinelosis doméstica y selvática, causadas por las especies *Trichinella spiralis* y *T. britovi*. Esta complejidad epidemiológica se refleja en la triquinelosis humana donde se produce una continua declaración de casos con una media de 5 brotes/año. Estos brotes fueron provocados principalmente por el consumo de carne de cerdo criado en pequeñas granjas familiares y por carne de jabalí abatidos en cacerías. La situación contrasta con la que presentaba España años atrás donde el cerdo criado en régimen intensivo era la principal causa de infestación humana. Así, de los 44 brotes declarados en el período 1990-2000 un 77,2% presentó al jabalí como fuente de transmisión, un 11,4% fue producido por el consumo de carne de cerdo y un 11,4% tuvo un origen desconocido. En cuanto a la caracterización molecular de las especies de *Trichinella* implicadas en dichos brotes se realizó mediante la técnica RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) y el empleo de anticuerpos monoclonales (US5 y US9). Dichas técnicas nos han permitido diagnosticar a *T. spiralis* y *T. britovi* como las especies responsables de los brotes humanos de la enfermedad. Con respecto a los pacientes, en las muestras séricas enviadas a nuestro Servicio se realizó la detección de anticuerpos anti-*Trichinella* mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), si bien en la mayoría de los brotes los resultados no se pudieron completar por falta de datos clínicos y el sesgo de la muestra.

Financiación: Proyectos FIS 94/0321; 97/0141; 00/0787 y Proyecto propio ISCIII MPY 01/1337.

Sesión 11

Infecciones víricas

221

EFICACIA DE LA VACUNACIÓN FRENTE AL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) EN PACIENTES CON TRASPLANTE HEMATOPOYÉTICO (TH)

R. Cesteros, A. Menasalvas, C. Vallejo, A. González, F. de Arriba y M. Segovia

Servicio de Microbiología y Hematología. Hospital J.M. Morales Meseguer. Murcia.

Objetivo: Conocer la respuesta a la vacunación frente al VHB en pacientes sometidos a TH.

Métodos: Desde marzo del 2000, 39 pacientes sometidos a TH (20 alogénicos, 19 autólogos) en nuestro centro fueron vacunados frente al VHB. La vacunación se inició a partir del 6º mes en los pacientes con TH autólogos y a partir del 12º mes en los TH alogénicos. Se administró Engerix B (40 µg) según pauta 0, 1 y 6 meses. Al mes de finalizar la tercera dosis se analizó el título de Ac anti-HBs en suero del paciente. En los casos en los que no existió seroconversión (título inferior a 10 mUI/ml) se administraron dos dosis adicionales de vacuna. Los resultados se analizaron en función de las características clínicas y el tipo de trasplante de los sujetos en estudio.

Resultados: Once de los TH alogénicos (55%) y 14 de los TH autólogos (74%) convirtieron. De los no conversores, 2 de los pacientes con TH autólogo y ninguno con TH alogénico convirtieron tras las dos dosis adicionales. Cinco TH alogénicos (25%) y 12 TH autólogos (63%) alcanzaron títulos de Ac antiHBs superiores a 100 mUI/ml. Entre los 15 TH alogénicos que no alcanzaron dichos títulos, 14 padecían enfermedad injerto contra huésped crónica (EICH) y 13 estaban recibiendo tratamiento inmunosupresor.

Conclusiones: Los pacientes sometidos a TH autólogo presentan una aceptable respuesta a la vacunación frente al VHB a partir del 6º mes del trasplante. Los pacientes sometidos a TH alogénico con EICH crónica en tratamiento inmunosupresor muestran una pobre respuesta a la vacunación frente al VHB, a pesar de iniciarse ésta con posterioridad al 1º año.

222

NIVELES DE VIREMIA DEL VHB EN PORTADORES INACTIVOS (PI-VHB) Y EN PACIENTES CON HEPATITIS CRÓNICA B (HCB) ANTIHBe

S. Melón*, M. de Oña, M.I. Blanco, J.A. Boga, A. Martínez, M. Rodríguez* y L. Rodrigo*

*Sección de Virología (Microbiología I) y *Digestivo. HCA, Oviedo.*

Objetivo: Ante la dificultad en distinguir entre pacientes con HCB antiHBe (mutantes precure) en fase de inactividad transitoria y PI-VHB se pretendió conocer si la cuantificación del ADN-VHB por PCR permite distinguir entre ambas situaciones y determinar si la misma es útil para predecir la negativización del HBsAg en PI-VHB.

Pacientes y métodos: Se determinó el ADN-VHB por PCR (Cobas Amplicor HBV Monitor, Roche; sensibilidad 10²) en 47 pacientes con infección crónica por VHB, 21 con HCB antiHBe en fase de inactividad en el momento de la determinación (ALT normal) y 26 PI-VHB. El seguimiento antes y después de la determinación fue de 108 ± 52 y 17 ± 10 meses en el grupo de HCB y 103 ± 49 y 24 ± 12 en los PI-VHB. Todos los pacientes con HCB tuvieron episodios de reactivación antes y después de la determinación.

Resultados: De los 26 PI-VHB, 14 negativizaron el HBsAg un año después de la determinación, mientras que los 12 restantes continuaron siendo HBsAg positivo. Los niveles medios de ADN fueron de 79.829 ± 78.314 copias/ml en HCB y de 6.204 ± 16.282 en PI-VHB (p < 0,0001). El ADN fue > 10² en el 100% de HCB y en 16/26 (61,5%) PI-VHB. Entre los PI-VHB la ausencia de ADN (< 10² cop/ml) fue más frecuente en los que negativizaron el HBsAg que en los que no lo hicieron (57% vs 16%; p = 0,05). Todos los PI-VHB tuvieron valores < 10⁵ cop/ml, pero tales valores se observaron también en 15/21 (71%) de las HCB (VPP 63%, VPN 100%). El valor con mayor poder discriminante fue 5 x 10³ cop/ml; valores superiores se observaron en 18/21 (86%) HCB y en 4/26 (15%) PI-VHB (p < 0,0001; VPP 81%, VPN 88%).

Conclusiones: Aunque todos los PI-VHB tienen DNA < 10⁵ cop/ml, este hecho se observa también frecuentemente en pacientes con HCB antiHBe en fase de inactividad transitoria, por lo que este valor no permite discriminar entre ambas situaciones. Los portadores inactivos en los que no se detecta ADN por PCR (< 10² cop/ml) tienen altas probabilidades de negativizar el HBsAg durante el año que sigue a la determinación.

223

HEPATITIS B OCULTA EN PACIENTES CON COINFECCIÓN VIH-VHC

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

Hospital Clínico San Cecilio. Granada.

Objetivos: Comprobar la existencia de hepatitis B oculta en pacientes VIH con hepatitis C en nuestro medio y estudiar su significado clínico.

Métodos: Se amplificó el gen precore/core del DNA de VHB en suero de 105 pacientes VIH coinfectados con VHC, todos HBsAg negativos. Para ello se utilizó un juego de dos pares de iniciadores que amplifica un fragmento de ADN de 239 pares de bases mediante una Nested PCR. El producto de amplificación se visualizó mediante electroforesis en Agarosa al 2% y tinción con bromuro de etidio. Para descartar falsos positivos, todas las muestras se analizaron por duplicado.

Resultados: Detectamos este fragmento de DNA de VHB en 10 pacientes de los 105 estudiados (9,5%), todos ellos eran vírémicos para VHC; la distribución de genotipos fue la siguiente: 1a (50%), 1b (10%) y 3a (10%).

Conclusión: Se ha demostrado la presencia de hepatitis B oculta en el 9,5% de los pacientes con coinfección VHC-VIH con RNA de VHC positivo en nuestro medio. Debido a la importancia de este hallazgo consideramos imprescindible continuar el estudio con un mayor número de pacientes, así como evaluar las implicaciones clínicas que la hepatitis B oculta puede tener sobre la hepatopatía en el paciente VIH.

224

SEROPREVALENCIA DE HEPATITIS A EN INFECTADOS POR VIRUS C

A. Chocarro, A. González, I. García, A. Fernández y M.A. Folgado

Hospital Virgen de la Concha. Zamora.

Se ha recomendado la vacunación frente al virus de la hepatitis A (VHA) en los pacientes infectados por virus de la hepatitis C (VHC). Así mismo, se ha sugerido que los enfermos VIH positivos presentan mayor riesgo de padecer hepatitis A.

Objetivo: Conocer la seroprevalencia de VHA en pacientes infectados por VHC, y si esta seroprevalencia es mayor en los coinfectados por VIH.

Métodos: Se determinó la presencia de anticuerpos IgG frente a VHA en 124 pacientes infectados por virus C. De ellos, 69 estaban coinfectados por VIH. La edad media del grupo era de 40 años, siendo el 74% varones, y un 63% eran portadores del genotipo 1. Los anticuerpos frente a VHA, VHC y VIH fueron determinados por técnicas de ELISA.

Resultados: La seroprevalencia de VHA fue del 81%. No se encontraron diferencias según sexo (78% de las mujeres y 83% de los varones), genotipo de VHC (83% en los portadores del genotipo 1, y 84% en el resto), ni antecedentes de UDVP (81% en ambos grupos). Los pacientes coinfectados por VIH presentaban una seroprevalencia de VHA del 87%, siendo del 75% en el resto, $p = 0,06$. Por otra parte, se encontró una relación entre la edad y la presencia de anticuerpos VHA (41 años los VHA (+) vs. 30 los VHA (-); $p < 0,001$). Cuando se realizó un análisis de regresión logística, se encontró que el único factor significativamente asociado a la presencia VHA era la edad (OR = 1,24; 1,12-1,37, $p < 0,05$). Solo el 3% de los enfermos mayores de 40 años eran VHA (-).

Conclusiones: La seroprevalencia de VHA en infectados por VHC es del 81%. En el análisis de regresión logística, no se encontró asociación entre la infección VIH y la presencia de anti-VHA. La positividad de estos últimos, se relaciona positivamente con la edad.

225

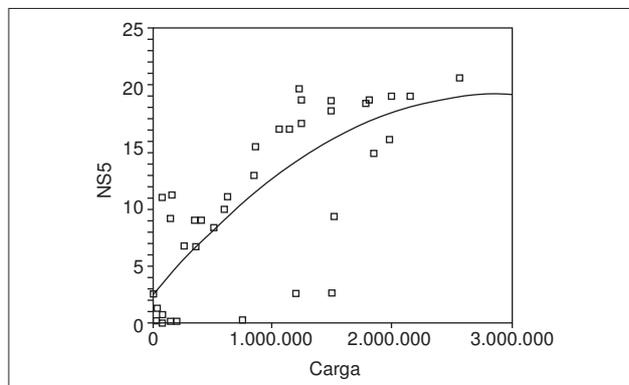
CARGA VÍRICA Y ANTICUERPOS FRENTE A LA REGIÓN NS5 EN LA INFECCIÓN CRÓNICA POR EL VIRUS DE LA HEPATITIS C

J.A. Lepe, A. Garrido y F.J. Guerrero
Hospital General de Riotinto. Huelva.

Objetivo: Buscar una relación entre carga vírica y los anticuerpos frente a la región NS5 en la infección crónica por el virus C (VHC).

Pacientes y métodos: 1) Muestra: 39 enfermos con infección crónica por VHC, 16 de ellos cirróticos, con edades comprendidas entre los 28 y 80 años, mediana 53. 2) Estudio serológico: detección cualitativa: HVC 3.0 MEIA Asxym Abbott, cuantificación de anticuerpos NS5: HVC 2.0 Matrix Abbott. 3) Estudio virológico: carga vírica, COBAS Amplicor HVC monitor Roche. 4) Estudio estadístico: regresión lineal simple, SPSS 10.0.

Resultados: La carga vírica y el nivel de anticuerpos NS5 presentan una relación cuadrática: $r = 0,77$ $p < 0,001$ estabilizándose la producción de anticuerpos para cargas víricas superiores a 2.000.000 de copias/ml.



Conclusiones: Los niveles de anticuerpos frente NS5 traducen la carga vírica hasta niveles de 2.000.000 de copias/ml, en los cuales se estabilizan a niveles de 20 UA/ml con nuestro método. Se necesitan nuevos estudios para conocer si estos niveles de anticuerpos pueden utilizarse como un factor pretratamiento de predicción de respuesta.

226

SEGUIMIENTO DE ANTI-VHC EN NIÑOS SEROPOSITIVOS AL NACIMIENTO

M. Rodríguez, A. Rodríguez-Guardado, M. Villar, S. Melón, M. de Oña, M. García y A. Martínez
Microbiología I. Hospital Central de Asturias. Oviedo.

Objetivo: Conocer la evolución del nivel de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C en niños nacidos de madres anti-VHC positivas.

Pacientes y métodos: Entre enero de 1991 y diciembre de 2000 se siguieron serológicamente 84 niños con anticuerpos anti-VHC en el momento del nacimiento. Se recogieron muestras de sangre periódicamente: al mes del nacimiento y posteriormente cada tres meses. En 14 casos hubo un seguimiento menor de 9 meses y no se consideraron en el estudio. Se estudiaron 360 muestras de suero (media por paciente 4,3 \pm 1,75; rango 2-12). La detección de anticuerpos anti-VHC se realizó mediante técnicas inmunoenzimáticas (EIA, MEIA). Los resultados positivos se confirmaron por Inmunoblot (RIBA, InnoLiA). También se estudió la serología de VIH (EIA, MEIA y WB en los positivos) en 65 pacientes.

Resultados: Setenta pacientes (83%) fueron estudiados durante un periodo medio de 14 \pm 7,7 meses (rango 3-57). Tres pacientes permanecieron seropositivos durante más de 18 meses. En los tres se detectó ARN del VHC. Ninguno de ellos presentaba anticuerpos frente al VIH. Los 67 niños restantes perdieron los anticuerpos anti-VHC: 2 (3%) a los 3 meses, 7 (10,4%) a los 6 meses, 12 (18%) a los 9 meses, 21 (31,3%) a los 12 meses, 19 (28,3%) a los 18 meses y 6 (9%) tardaron más de 18 meses. Quince pacientes eran anti-VIH positivos; todos perdieron los anticuerpos frente a VHC y no se encontró diferencia significativa con relación a los anti-VIH negativos.

Conclusiones: Los pacientes de nuestro estudio han tenido un buen seguimiento. En la mayoría de los casos (96,7%) los anticuerpos anti-VHC se negativizaron lo que sugiere una baja frecuencia de transmisión vertical/perinatal del VHC. Dicha frecuencia no se pudo calcular puesto que no se ha hecho control sistemático de infección VHC en la gestación.

227

ANTICUERPOS ANTICARDIOLIPINA EN PACIENTES CON HEPATITIS C

A. Chocarro, A. González, I. García, M.A. Folgado y A. Fernández
Hospital Virgen de la Concha. Zamora.

Algunos autores han encontrado anticuerpos anticardiolipina (ACL) en los enfermos infectados por virus C de la hepatitis (VCH). Sin embargo, su prevalencia y significado clínico son aún mal conocidos.

Objetivos: Conocer el porcentaje de pacientes infectados por VCH con ACL, y determinar si se asocian a fenómenos tromboembólicos.

Métodos: Se solicitaron los ACL (IgG y/o IgM) a 42 pacientes con infección por VHC crónica, VIH negativos, sin insuficiencia renal, seleccionados al azar de la Consulta Externa de Infectología. La edad media de los pacientes fue de 41 años, el 84% eran portadores del genotipo 1, y el 36% eran mujeres. Se realizó un cuestionario sobre los antecedentes tromboembólicos de los enfermos. Los ACL fueron determinados por la técnica de enzoinmunoanálisis.

Resultados: Se encontraron ACL positivos en 6 pacientes (14%), siendo su edad media de 43 años (NS). De los casos positivos, 5 eran mujeres (OR = 13; 1,34-125,52, $p < 0,05$), 4 presentaban un genotipo 1(NS), y ninguno refería antecedentes de tromboembolismos. En el análisis de regresión logística, solo el sexo femenino se asociaba a la presencia de ACL (OR = 8,57; 0,76-94,63, $p = 0,08$).

Conclusiones: Los ACL IgG y/o IgM son positivos en el 14% de los infectados crónicamente por VHC, fundamentalmente en mujeres. En nuestros pacientes, la presencia de ACL no se traduce en una mayor incidencia de fenómenos tromboembólicos.

228

VIRUS C Y TOXICIDAD HEPÁTICA DEL TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSO

J.F. García, A. Fernández, A. Blanco, M.V. Lorenzo, A. Mariño y P. Sesma

Hospital A. Marcide-Prof. Novoa Santos. Ferrol. La Coruña.

Objetivos: Conocer los factores asociados a la toxicidad hepática por el tratamiento antituberculoso.

Métodos: Estudio prospectivo de 922 casos de tuberculosis seguidos en una consulta monográfica entre los años 1990-2000. Se realizó una bioquímica hepática antes de iniciar el tratamiento, al primer y segundo mes, y ante la presencia de síntomas clínicos durante el resto del tratamiento. Se consideró hepatotoxicidad severa: elevación de más de cinco veces los valores iniciales de las transaminasas, más de tres veces los valores de FA y GGTP y/o aumento de bilirrubina con ictericia. De forma protocolizada se recogieron datos sobre sexo, edad, antecedente de etilismo crónico, infección por virus C, hepatitis crónica por virus C o B, cirrosis hepática, infección por el VIH, ADVP, albúmina, presencia de fiebre, tratamientos concomitantes con fármacos potencialmente hepatotóxicos, formas de tuberculosis y pautas de tratamiento antituberculoso. En los pacientes que presentaron hepatotoxicidad severa se descartaron otras causas por serología de virus hepatotropos. Se realizó un estudio descriptivo de las variables y un análisis de regresión logística para conocer que factores se asocian con la toxidad hepática.

Resultados: De los 922 casos, presentaron hepatotoxicidad severa 79 (8,6%). De los 79, 49 (62%) fueron varones; la media de edad fue de $45,7 \pm 21,3$ años (amplitud 13-90). Se utilizaron pautas de tratamiento de 6 o 9 meses de duración con pirazinamida en 70 (88,6%) casos y otras pautas sin pirazinamida en 9 (11,4%). Los factores asociados con hepatotoxicidad severa fueron: la edad (OR 1,02; IC95%: 1,01-1,03), la infección por virus C (OR 6,1; IC95%: 1,9-19,2), la hepatitis crónica por virus C (OR 27,06; IC95%: 3,8-191,6), el tratamiento con otros fármacos potencialmente hepatotóxicos (OR: 1,87; IC95%: 1,04-3,3) y la presencia de fiebre cuando se inició el tratamiento (OR 2,6; IC95%: 1,6-4,4).

Conclusiones: La infección por el virus de la hepatitis C es uno de los factores más importantes asociados a la hepatotoxicidad por los fármacos antituberculosos.

229

ESTUDIOS DE LOS GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C EN PACIENTES CON Y SIN INFECCIÓN POR EL VIH

A. Anguita, E. Clavijo, J.C. Gavilán, T. Riba, C. Arana y P. Pinedo
Servicios Microbiología y Medicina Interna. HCU Virgen de la Victoria, Málaga.

Objetivos: Analizar los genotipos de VHC y determinar las posibles diferencias según se trate de pacientes infectados o no por VIH.

Material y métodos: Fueron estudiados 439 pacientes, 278 varones y 161 mujeres, rango entre 18-88 años, de los cuales 121 (26,5%) eran VIH+, y 318 VIH-. Genotipo mediante Inno-Lipa HCV Innogenetic. Se cuantificó la carga viral en plasma mediante Cobas Amplicor VHC/VIH monitor de Roche. El análisis estadístico t de Student y χ^2 .

Resultados: De los 439 pacientes se consiguió tipar 421 (97,3%). La distribución ha sido: tipo 1, 318 (72,4%) que se repartió, 244 (55,5%) en los VIH- y 74 (16,8%) en los VIH+. Predominaron los subtipos 1b, 205 (46,6%) en los VIH- y los 1a, 27 (6,15%) en los VIH+; tipo 2, 11 (2,5%), 10 (2,2%) eran VIH- y 1 (0,22%) en un VIH+; tipo 3, 59 (13,4%), 34 (7,7%) en los VIH- y 25 (5,6%) en los VIH+; tipo 4, 10 (2,2%), 7 (1,5%) en los VIH- y 3 (0,68%) en los VIH+; tipo 5, 1 (0,22%) en un VIH-. Presentaron infección mixta del tipo 1a/4, 20 (4,5%): 7 (1,5%) en los VIH- y 13 (2,9%) en los VIH+. El tipo 1b/4, 2 (0,45%) solamente se observó en pacientes VIH-. Son significativamente más frecuentes los genotipos y subtipos 1b, 2 y 1a/1b en los VIH- mientras que predominan 1a, 4 y 3 en los VIH+ (p < 0,01). La edad media de los sujetos coinfectados fue significativamente menor (p < 0,01). Las infecciones mixtas fueron 4,13 veces más frecuentes en pacientes VIH+.

Conclusiones: En nuestro medio, el genotipo más frecuente es el 1, pero existe diferencia en la distribución de subtipos: 1a en los coinfectados VHC/VIH y 1b en los infectados por VHC. No encontramos diferencias significativas en la carga viral media del VHC, independientemente de que se trate de pacientes coinfectados por el VIH.

230

RESPUESTA VIROLÓGICA DEL VIRUS DE HEPATITIS C EN DOS PAUTAS DE TRATAMIENTO

M.I. Blanco, S. Melón, M.J. García, M. Rodríguez, A. Palacio, R. Pérez*, L. Rodrigo* y M. de Oña

S. Microbiología (Virología) y *Digestivo. HCA Oviedo.

Objetivos: Valorar dos pautas de tratamiento en la hepatitis crónica por virus C (HCC).

Material y métodos: Estudio multicéntrico y prospectivo en el que se incluyeron 812 pacientes con HCC no tratados, divididos aleatoriamente en dos brazos: Gr A) tto experimental con dosis inducción diaria de Interferón; Gr B) tto estándar con Interferón tres v.p.s. Entre julio de 1998 y diciembre de 2000 se recogieron 3.577 sueros (basal, mes 1, 3 y 6, y meses 12 y 18 en los respondedores en mes 6). El ensayo tenía dos puntos finales: el mes 6 y el mes 18. La detección y cuantificación del VHC se realizó por Cobas Amplicor y Monitor (Roche®, USA) y "b-DNA" (Bayer®, Alemania), y el genotipo por Innolipa HCV II (Innogenetics®, Bélgica).

Resultados: En el primer punto final fueron valorables 614 pacientes, de ellos 410 negativos (66,7%): 210/304 (69%) del Gr A, y 200/310 (64,5%) del Gr B. La respuesta según el genotipo (Geno) y la carga viral (cv) basal se muestra en la tabla 1.

| ± | Gr A | Gr B | p | ± | Gr A | Gr B | p |
|--------|--------|----------|------|------------------------|--------|--------|----|
| Geno 1 | 142/76 | 111/95 | 0,02 | cv > 2,10 ⁶ | 142/68 | 120/83 | ns |
| Geno 3 | 38/1 | 49/5 | ns | cv ↔ | 46/14 | 41/18 | ns |
| Otros | 14/10 | 19/4 | ns | cv < 2,10 ⁵ | 15/6 | 28/5 | ns |
| p | 0,0002 | < 0,0001 | | p | ns | 0,01 | |

En el mes 18 se valoraron 304 pacientes. Fueron negativos 254 (83,5%), 131/152 (86,1%) del Gr A y 123/152 (80,9%) del Gr B. La respuesta según el Geno y la cv basal, añadidos los pacientes cuya muestra del 6º mes fue positiva, se expone en la tabla 2.

| ± | Gr A | Gr B | p | ± | Gr A | Gr B | p |
|--------|----------|----------|------|------------------------|-------|--------|------|
| Geno 1 | 88/92 | 70/115 | 0,04 | cv > 2,10 ⁶ | 89/83 | 70/104 | 0,04 |
| Geno 3 | 29/1 | 32/8 | ns | cv ↔ | 32/16 | 31/19 | ns |
| Otros | 7/12 | 13/7 | ns | cv < 2,10 ⁵ | 7/8 | 19/11 | ns |
| | < 0,0001 | < 0,0001 | | p | ns | 0,004 | |

Conclusiones: El genotipo 3 responde mejor, en los dos grupos. El genotipo 1 tiene mejor respuesta con inducción. Los pacientes con carga viral basal alta tienen mejor respuesta sostenida con tto de inducción.

231

EL INTERFERÓN BETA EN LOS PACIENTES CON ESCLEROSIS MÚLTIPLE NO AFECTA A LA CARGA VIRAL DEL HHV-6

R. Álvarez, M.I. Cour, C. Martín-Estefanía, A. Kanaan, V. de las Heras, C. Castrillo, R. Arroyo, E. Varela de Seijas y J.J. Picazo

Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Introducción: Aunque el tratamiento con Interferón beta (IFN- β) en los pacientes con Esclerosis Múltiple (EM) disminuye la tasa e intensidad de los brotes, se desconoce aún cómo actúa.

Objetivos: Determinar si el tratamiento con IFN- β en los enfermos de EM afecta a: 1) La prevalencia de ADN del Herpesvirus humano 6 (HHV-6). 2) La carga viral del HHV-6.

Materiales y métodos: Se estudiaron 185 muestras de suero de enfermos con EM recurrente remitente (EMRR), de los que 109 estaban recibiendo tratamiento con IFN- β (ninguno recibió tratamiento con corticoides previo a la extracción). Se extrajo el ADN de suero y se cuantificó en un espectrofotómetro. El ADN fue analizado para estudiar la presencia de genomas de HHV-6, mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) cuantitativa a tiempo real, con una sensibilidad de 1 sola copia de ADN.

Resultados: Entre los enfermos de EMRR no se encontraron diferencias significativas en las prevalencias de ADN del HHV-6 entre aquellos que estaban recibiendo tratamiento inmunomodulador con IFN- β y los que no recibían dicho tratamiento: 52,2% y 48,3% respectivamente ($p > 0,05$). Tampoco se vio afectada la carga viral media que fue de 26,3 copias/ μ g de ADN extraído de suero para ambos grupos (oscilando de 1 a 86 copias).

Conclusiones: El tratamiento con IFN- β en los pacientes con EM no afecta ni a la prevalencia de ADN del HHV-6 ni a su carga viral, de forma que la disminución de la tasa e intensidad de los brotes en los enfermos de EMRR no se debería a su acción sobre este virus.

232

INFECCIÓN POR VIRUS HERPES HUMANO-8 (HHV-8) EN LA PRÁCTICA HOSPITALARIA

R. Ortiz de Lejarazu, M. Ortega, F. Padrón, J.M. Eiros, B. Hernández, C. Labayru, M.A. Mantecón y A. Rodríguez-Torres
Hospital Universitario Valladolid.

Objetivo: Estimar la seroprevalencia de HHV-8 en donantes de sangre y en poblaciones de riesgo de transmisión sexual.

Material y métodos: Se analizaron 484 muestras: 424 correspondientes a donantes (agrupadas en lotes de cinco), 30 a pacientes VIH positivos homo/bisexuales y 24 sueros de mujeres ADVP que ejercían la prostitución. Se utilizó como técnica de despistaje un EIA IgG HHV-8 (Abi, USA). Las muestras de los lotes positivos y las pertenecientes al grupo de homo/bisexuales se retestaron por IFI HHV-8 IgG (Biotrin, USA) a las diluciones 1/20, 1/50 y 1/100. Se realizó una confirmación por IFI del 5% de las muestras de donantes negativas extraídas al azar. Se realizó determinación de ADN de papilomavirus (HPV) por hibridación en muestras genitales de las mujeres prostitutas.

Resultados: 14 (2,89%) muestras fueron positivas por EIA, dos de ellas del grupo de donantes (0,47%) y 6 de cada grupo de pacientes homo/bisexuales (20%) y mujeres que ejercían la prostitución (40%).

La técnica de IFI confirmó la presencia de Ac HHV-8 en todas las muestras (diluciones 1/20, 50 y 100). Además la IFI detectó 6 muestras positivas entre el grupo de sueros negativos por EIA de pacientes homo/bisexuales (diluciones \geq

1/20). Ninguna muestra de las extraídas al azar mostró reactividad por IFI. El 50% de las muestras de mujeres prostitutas, VIH positivas y con infección por VPH fueron reactivas mediante EIA; el 75% de aquellas con infección por VIH y ninguna del grupo con infección por VPH (VIH negativas).

Conclusiones: Nuestros resultados parecen demostrar una baja prevalencia de infección por HHV-8 entre donantes de sangre (0,42-0,52%, IC95%). La técnica de IFI tiene una mayor sensibilidad que la de EIA. Está técnica debería emplearse a partir de diluciones 1/20. Entre mujeres prostitutas la detección de Ac frente a HHV8 se asoció a la coinfección por el VIH y VPH.

233

PREVALENCIA DE HERPESVIRUS HUMANO TIPO 8 EN DIVERSOS COLECTIVOS DE ENFERMOS

M. Benedicto, M.I. Cour, A. Kanaan, D. Dabrio, V. Roca, D. Prats y J.J. Picazo

Servicio de Microbiología Clínica. Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Introducción: El herpesvirus tipo 8 (HHV-8) es un γ -herpesvirus descubierto por primera vez en 1994 en lesiones de sarcoma de Kaposi (SK) por Chang et al. La mayoría de los investigadores consideran al SK como una enfermedad multifactorial en la que no sólo contribuye a ella HHV-8, sino que el estado inmunológico, prácticas sexuales, etc. ejerce también un papel muy importante. En el presente estudio determinamos el genoma de HHV-8 en distintos colectivos de pacientes.

Material y métodos: En un total de 690 muestras de sangre de las cuales 60 de ellas pertenecían a 60 pacientes VIH+ (30 con SK y 30 sin SK), 500 a 50 pacientes transplantados renales a los que se les realizó un seguimiento de 10 meses y 130 muestras de sangre de 130 voluntarios sanos donantes de sangre, hemos determinado la presencia de ADN de HHV8 realizando la técnica de *nested* -PCR.

Resultados: De los 60 pacientes estudiados VIH+, 23 presentaban genoma de HHV8 (38,3%), de los 30 pacientes con SK 17 presentaban ADN de HHV-8 (56%) mientras que tan sólo 5 de los 30 enfermos de VIH sin SK mostraban positividad a HHV8 (16,6%).

De los 50 pacientes transplantados renales, determinamos genoma de HHV-8 en 17 de ellos en algún momento del estudio (34%), 2 de ellos desarrollaron SK aproximadamente a los 6 meses de la detección del ADN de HHV8 (4%).

Tan sólo 1 de los donantes de sangre mostró genoma de HHV8. (0,76%).

Conclusión: El grupo de enfermos con mayor prevalencia de ADN de HHV-8 fue el de los pacientes VIH+ con SK.

Los resultados obtenidos hacen pensar que la inmunodepresión y la presencia de HHV8 son 2 factores que favorecen el desencadenamiento del SK.

La detección de una sola muestra positiva en los donantes hace pensar que este virus esta poco difundido entre la población sana.

234

EFICACIA Y EFICIENCIA DE LA PCR EN MUESTRAS CUTÁNEAS SELECCIONADAS CON SOSPECHA DE VARICELA-ZÓSTER (VZ)

C. Borraz, C. Polo, J. Niubò, M. Peiró, P. Pérez, J.L. Pérez y R. Martín

Servicio de Microbiología, C.S.U. de Bellvitge, L'Hospitalet, Barcelona.

Objetivo: El diagnóstico del herpes zóster es básicamente clínico. Cuando es necesario confirmarlo, el método de refe-

rencia es la detección directa de antígeno (DDA). La eficiencia de éste método está condicionada por la calidad de la muestra, en ocasiones difícil de obtener (conducto auditivo). La PCR podría ser una alternativa en casos muy seleccionados. Se evalúa la eficacia y eficiencia de la PCR en muestras cutáneas seleccionadas con sospecha de zóster, en las que es importante la confirmación virológica.

Métodos: a) *Muestras:* se obtuvieron 38 muestras cutáneas seleccionadas (13 frotis de conducto auditivo, 19 frotis de vesícula dérmica y 6 frotis de úlcera dérmica) de 36 pacientes con sospecha de infección por VZ. El criterio de selección fue: todos los frotis del conducto auditivo y aquellas otras muestras con resultado no valorable por DDA. b) *Métodos virológicos:* cultivo viral convencional en fibroblastos (CVIR), DDA del VZ por IFI, amplificación por PCR (J Med Virol 1991;35:136-41). c) *Diagnóstico:* se revisaron las 38 historias para establecer el diagnóstico de referencia; en 9 el cultivo vírico positivo estableció también el diagnóstico definitivo.

Resultados: De las 38 muestras estudiadas, 23 fueron diagnosticadas de VZ (8 confirmadas por CVIR). En 20/23, la PCR fue positiva, y en 4/23 la DDA. Las 15/38 muestras cuyo diagnóstico definitivo no fue VZ (3 infección por el virus herpes simple con cultivo positivo) la PCR fue negativa. Sensibilidad: 87%. Especificidad: 100%. De los 13 frotis de conducto auditivo, en 9 el diagnóstico fue de síndrome de Ramsay-Hunt, con PCR positiva, en los 4 restantes, la PCR fue negativa (1 CVIR positivo para herpes simple, 1 herpes zóster trigeminal y 2 sin diagnóstico final.)

Conclusión: La PCR presenta una alta sensibilidad y especificidad como método diagnóstico de confirmación de la infección por VZ en muestras cutáneas de difícil obtención o en las que la DDA no es concluyente.

235

EPIDEMIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN POR VIRUS PARAINFLUENZA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

P. Liendo, M. Imaz, A. Butrón y R. Cisterna
Servicio de Microbiología y Control de Infección.
Hospital de Basurto. Bilbao.

Objetivos: Investigar el patrón epidemiológico de los distintos tipos, así como su asociación a distintos cuadros clínicos.

Método: Estudio retrospectivo de los aislamientos de virus parainfluenza (PIV) en niños en el hospital de Basurto desde 1995 (octubre) hasta 2001 (octubre). Se aisló en shell-vial (líneas celulares: A-549 y en invierno MDCK) y cultivos convencionales (líneas celulares: A-549, Fibroblastos, HEp-2 y en invierno MDCK). El screening se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta pool de anticuerpos monoclonales (Respiratory Panel I Viral Screening, Chemicon) y el tipado con anticuerpos monoclonales específicos (Identification Kit, Chemicon).

Resultados: Se aisló PIV en 51 muestras de 47 pacientes, de los cuales 36 eran varones y 11 mujeres, con edades comprendidas entre 1 mes y 5 años. Los aislamientos en shell-vial supusieron un 88,23% y en cultivo un 84,31%. Se aislaron 13 parainfluenza virus tipo 1 (8 de ellos pertenecen a un brote acaecido en octubre de 1995), 3 del tipo 2 y 32 del tipo 3. El diagnóstico inicial fue de bronquiolitis en el 62,5% (25 PIV3, 4 PIV1 y 1 PIV2), laringitis/croup en el 22,91% (8 PIV1 y 3 PIV3) síndrome pertusoide (2 PIV3), neumonía (1 PIV2 y 1 PIV3) en el 4,16%, catarro en el 2,08% (1 PIV1) y 2 casos con etiología desconocida (1 PIV2 y 1 PIV3). La mayor parte de los aislamientos se produjo en junio (11) y en octubre (18) y noviembre (7). Los aislamientos de PIV3 se han sucedido a lo largo de los años mientras que el tipo 1 aparece en años impares. PIV2 no aparece con un patrón específico.

Conclusión: PIV3 provoca brotes anuales de bronquiolitis en primavera y otoño; PIV1 provoca laringitis aguda/croup en los otoños de años impares y PIV2 se aísla en bajo porcentaje de casos.

236

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA INFECCIÓN POR ORTHOMYXOVIRUS EN GANADO OVINO EN LA PROVINCIA DE PALENCIA

L. Lledó, M.I. Gegúndez, E.M. López, J.V. Sáz, R. Álamo y M. Beltrán

Dpto. Microbiología y Parasitología, Facultad Medicina, Universidad Alcalá. Alcalá de Henares, Madrid.

Objetivos: Dentro de la Familia *Orthomyxoviridae* se encuentran dos géneros transmitidos al ser humano por la picadura de garrapata: los virus Dhori y Thogoto. Ambos producen ocasionalmente patología en el varón, desde cuadros febriles benignos hasta meningoencefalitis. Los reservorios son pequeños mamíferos, pero también pueden estar involucrados grandes mamíferos, incluso animales domésticos. Aunque estos virus han sido aislados de sus reservorios, artrópodos vectores y de pacientes en diversos países del mundo incluido los europeos, en España hasta la fecha, se han realizado pocos estudios clínicos y epidemiológicos sobre estos agentes infecciosos. Con este trabajo nos proponemos conocer la presencia de infección por estos virus en ovejas, a fin de incrementar el conocimiento epidemiológico de estas infecciones en nuestro medio.

Métodos: Se estudiaron un total de 119 sueros pertenecientes a 4 rebaños de ovejas de varias localidades de la provincia de Palencia. Se detectó la presencia de anticuerpos específicos mediante una prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI), usando como antígenos células Vero E6 infectadas con los virus Dhori y Thogoto. Se consideraron como positivos los sueros que mostraron el patrón típico de fluorescencia a una dilución igual o superior a 1/16 para inmunoglobulinas totales.

Resultados: Se encontraron 32 sueros con anticuerpos específicos frente al virus Dhori (prevalencia del 26,8%), y 24 sueros frente al virus Thogoto (prevalencia del 20%). En los cuatro rebaños se detectaron sueros positivos frente a los dos virus.

Conclusiones: Los datos obtenidos en el estudio confirman la presencia de estas infecciones en el ganado ovino, aunque el grupo analizado es muy limitado y por tanto es importante continuar y ampliar a otras zonas del país el estudio para evaluar la importancia real del ganado ovino como reservorio de estos agentes, y de su implicación con patógenos animales y humanos en nuestro medio.

237

CARACTERIZACIÓN MEDIANTE SECUENCIACIÓN DE HPV DE ALTO RIESGO DETECTADOS MEDIANTE CAPTURA HÍBRIDA EN EXUDADOS CERVICALES

M. Ortiz*, L. Muñoz*, B. Menéndez**, P. Clavo**, J. Ballesteros** y A. García-Saiz*

*CNM, ISCIII, Majadahonda. **C.S. Sandoval. Madrid.

Objetivos: Determinar mediante secuenciación de la región L1, los tipos de papilomavirus humano, caracterizados como de alto riesgo mediante captura híbrida en muestras de exudados cervicales.

Métodos: Se estudiaron 39 muestras de exudados vaginales caracterizados como de alto riesgo por la técnica de captura híbrida (Digene HPV test Hybrid capture II), que permite la detección del DNA del papiloma virus humano mediante hibridación molecular.

A partir del DNA obtenido de las muestras de exudados cervicales, se llevó a cabo la amplificación mediante nested PCR de la región correspondiente al gen L1, altamente conservada en todos los papilomavirus humanos. La reacción de secuenciación se realizó a partir de los productos de PCR amplificados y purificados utilizando los primer internos de la PCR. Las secuencias obtenidas fueron analizadas mediante

comparación con las secuencias de referencia de los distintos tipos de HPV tomadas de la base de datos de los Alamos.

Resultados: De las 39 muestras estudiadas, 32 fueron caracterizadas como tipos de alto riesgo (82%) y 3 como tipos de bajo riesgo (7,6%). En las 4 muestras restantes no fue posible la asignación de tipo. La distribución de subtipos de alto riesgo encontrados fue de 11 de tipo 18 (34%), 9 de tipo 16 (28%), 5 de tipo 31 (16%), 3 de tipo 58 (9%), 2 de tipo 66 (6%), 1 de tipo 52 (3%) y 1 de tipo 39 (3%). Las tres muestras que fueron caracterizadas como tipos de bajo riesgo mediante secuenciación fueron HPV tipo 6.

Conclusiones: En el 82% de las muestras estudiadas los resultados obtenidos por captura híbrida y por secuenciación fueron concordantes. Los papilomavirus humano tipo 16 y 18 fueron los más frecuentes, encontrándose en la misma proporción.

238

DETECCIÓN DEL GEN E6-E7 EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN POR VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO

M. Oña, S. Melón, A. Palacio, F. Fierro, E. Hidalgo, A. Valle y M. Torrents*

*Servicios de Microbiología (Virología) y *Ginecología. H. Central de Asturias.*

Objetivo: comparar el rendimiento diagnóstico de los VPH oncogénicos detectados por hibridación post-PCR (gen L1) y la amplificación del gen E6/E7.

Material y métodos: Entre enero 1996-septiembre 2001 se estudiaron 1594 muestras endocervicales de 1016 pacientes ginecológicas con algunas de las siguientes alteraciones: lesiones escamosas intraepiteliares (SIL) de bajo o alto grado; carcinoma intraepitelial (CIN I, II o III); condilomas y controles. Durante el periodo 96-98, después de una digestión enzimática con proteinasa K se realizó una PCR simple con los cebadores MY09/MY11 que amplifican una secuencia del gen L1. Desde 1999 se realiza una PCR múltiple desarrollada en nuestro laboratorio con los cebadores MY09/MY11, y los cebadores HPVONC-1/HPVONC-2 (5'-tgt-caa-aaa-cgt-tgt-tgt-cc-3' y 5'-gag-ctg-tcg-ctt-aat-tgc-tc-3') que amplifican un fragmento de los genes E6/E7. Para comprobar la presencia de las bandas correspondientes de los amplificados, se realizó una electroforesis en gel de agarosa. La tipificación posterior se realizó mediante una hibridación con las sondas específicas de VPH 6,11,16,18 y 33 marcadas con ³²P.

Resultados: De las 1.016 pacientes estudiadas 353 fueron positivas (34%). La distribución de los genotipos fue: 49% de alto riesgo (VPH16, 18, 33), 4,8% VPH6, 2,5% VPH11 y 43,6% genotipos no tipificados. El porcentaje de los genotipos de alto riesgo fue similar en los dos periodos estudiados (55,4% vs 45,3%). En el periodo 1999-01, en 68 (63,3%) de 107 genotipos no tipificados se amplificó el gen E6/E7, aumentando el porcentaje de VPH oncogénicos del 45,3% al 75% (p < 0,001). Dentro de SIL de bajo grado, se encontró 35% de casos oncogénicos no atribuibles a genotipos 16, 18 o 33.

Conclusiones: 1) La amplificación del gen E6/E7 de los VPH oncogénicos aumenta significativamente el diagnóstico de estos genotipos. 2) El porcentaje encontrado de virus oncogénicos no tipados invita a buscar otros genotipos de alto riesgo que los clásicos VPH 16, 18 y 33.

239

DESCRIPCIÓN DE UN BROTE DE MENINGITIS POR ENTEROVIRUS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DE CANTABRIA

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

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

Los enterovirus constituyen el principal agente etiológico de meningitis aséptica en la infancia. En España se han produ-

cido dos ondas epidémicas en los años 1997 y 2000 debidas principalmente al subgrupo echovirus.

Objetivo: Describir las características epidemiológicas y los hallazgos de laboratorio de un brote de meningitis por enterovirus detectado en pacientes pediátricos durante el año 2000 en la provincia de Cantabria.

Material y métodos: En el laboratorio de Microbiología se recibieron muestras de LCR y de tracto respiratorio superior (TRS) de niños que acudieron a nuestro hospital presentando clínica compatible con meningitis. Las muestras fueron inoculadas en cuatro líneas celulares: MRC5, rhabdomyosarcoma (RD), Hep-2 y BGM. La identificación del virus se realizó mediante tinción con anticuerpos monoclonales frente al antígeno VP1 de enterovirus (Vircell). Posteriormente los aislados fueron enviados al centro nacional de referencia para su tipificación.

Resultados: Durante el periodo marzo-julio recibimos 122 muestras, pertenecientes a 79 pacientes con una edad media de 7,3 años (1 mes-15 años). De estos 56 eran varones y 23 mujeres. Se aisló enterovirus en 81 muestras de 57 pacientes (72%). El 69% de los LCR fueron positivos frente a un 63% de muestras del TRS. De 39 pacientes en los que se recogieron ambos tipos de muestras, un 76% de los LCR fueron positivos frente a un 69% de muestras del TRS. Como resultado de la tipificación se obtuvo que el 89,2% de los aislados correspondían al serotipo echovirus 30, 4,3% a echovirus 6 y 6,5% a echovirus 13.

Conclusiones: 1) El principal serotipo causante del brote de meningitis en nuestra región fue echovirus 30. 2) En nuestro caso, el rendimiento del cultivo de enterovirus a partir de LCR es superior al descrito en la bibliografía. 3) Este brote de meningitis se engloba dentro de la onda epidémica ocurrida en nuestro país en el año 2000, coincidiendo su remisión con el fin del curso escolar.

240

AISLAMIENTO DE POLIOVIRUS VACUNAL EN MUESTRAS DE 10 PACIENTES PEDIÁTRICOS

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

Servicio de Microbiología. Hospital Son Dureta. Palma de Mallorca.

Objetivos: Investigar la significación clínica del aislamiento de poliovirus vacunal en muestras fecales y aspirados nasofaríngeos de pacientes pediátricos de entre 3 y 5 meses de edad, que acudieron a urgencias de nuestro hospital en el periodo comprendido entre 1997 y 2000.

Métodos: Cultivo e identificación de poliovirus vacunal, por siembra de las muestras en fibroblastos humanos (línea MRC-5) mediante la técnica shell-vial; incubación de los viales durante 72 h; y revelado de las monocapas mediante inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos monoclonales específicos frente al género Enterovirus (Dako®); y posterior identificación como poliovirus vacunal (Chemicon®).

Resultados: De los 10 pacientes, 7 eran niños y 3, niñas. 6 de ellos acudieron por dificultad respiratoria y de 3 de ellos se recuperó virus respiratorio sincitial en aspirados nasofaríngeos; de uno de éstos 6 pacientes se recuperó un adenovirus en un aspirado nasofaríngeo.

Tres de ellos acudieron por presentar un cuadro de diarreas, náuseas y vómitos sin aislamiento de bacterias o parásitos patógenos por coprocultivo.

En uno de los pacientes, se diagnosticó una infección del tracto urinario (ITU); aislándose *Escherichia coli*, con un conteo de más de 100.000 UFC/mL en el urocultivo.

Se aisló poliovirus vacunal en muestras de aspirado nasofaríngeo y/o fecales de los 10 pacientes.

Conclusiones: En los 6 casos en que los pacientes acudieron por dificultad respiratoria y en el caso del paciente con una ITU, el aislamiento de poliovirus vacunal pudo coincidir con la fase de excreción del virus tras la vacunación.

En los tres casos en que los pacientes acudieron por un cuadro de diarreas y vómitos, el cuadro pudo ser provocado por la presencia y replicación del poliovirus vacunal en el intestino.

241

CALICIVIRUS HUMANOS COMO CAUSA DE CASOS ESPORÁDICOS Y DE BROTES EPIDÉMICOS DE GASTROENTERITIS AGUDA

J. Buesa, B. Collado, P. López-Andújar, J. Rodríguez Díaz, A. García Díaz y J. Prat

Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina y Hospital Clínico Universitario, Universidad de Valencia.

Los calicivirus humanos son causa de gastroenteritis agudas, tanto en forma de infecciones esporádicas en la comunidad como de brotes epidémicos, y se clasifican en dos géneros, virus tipo Norwalk (NLV), con dos genogrupos (I y II), y virus tipo Sapporo (SLV).

Objetivos: Estudiar la participación de calicivirus humanos como agentes etiológicos de casos esporádicos de gastroenteritis aguda y de brotes epidémicos de gastroenteritis ocurridos en distintas localidades de Cataluña y de la Comunidad Valenciana durante dos años (2000-2001).

Métodos: Se han analizado muestras fecales de 264 pacientes con gastroenteritis aguda de presentación esporádica y 81 muestras de pacientes afectados en 12 brotes epidémicos de gastroenteritis. Se descartó en todos los casos la presencia de bacterias enteropatógenas, protozoos y otros virus entéricos (rotavirus, adenovirus 40/41 y astrovirus). La detección de ARN de calicivirus NLV y SLV se realizó mediante RT-PCR con oligonucleótidos específicos de la región 3D del gen de la polimerasa viral. Los genotipos se determinaron por secuenciación.

Resultados: Se ha encontrado ARN de calicivirus humanos en 79 pacientes (22,89%), de los que 21 correspondían a casos esporádicos (18 NLV: 15 genogrupo II y 3 genogrupo I, y 3 SLV). En todos los brotes epidémicos de gastroenteritis aguda estudiados se han identificado como agentes causales calicivirus humanos tipo Norwalk (NLV), dos de ellos producidos por cepas del genogrupo I y 10 por cepas del genogrupo II, pertenecientes a diversos genotipos.

Conclusiones: Los calicivirus son una causa importante de gastroenteritis aguda en nuestro medio, tanto produciendo casos esporádicos como brotes epidémicos. Ocupan el segundo lugar, tras rotavirus, como causa de diarrea de etiología vírica en la infancia, y el primer lugar como causa vírica de brotes epidémicos de gastroenteritis.

242

TRANSMISIÓN MÚLTIPLE DE HTLV-I POR TRANSPLANTE DE ÓRGANOS A PARTIR DE UN DONANTE INFECTADO

M.P. González*, L. Muñoz*, J.J. Zarranz**, J. Corral** y A. García-Sáiz*

*CNM, ISCIII, Majadahonda. **Hospital de Cruces, Baracaldo.

Objetivo: Determinar el origen de una infección múltiple de HTLV-I en pacientes transplantados a partir de un mismo donante.

Materiales: Se estudiaron muestras de pacientes sometidos a transplante de los diferentes órganos de un mismo donante al sospechar una posible infección por HTLV-I. Para ello se analizaron muestras de sangre completa, suero, líquido cefalorraquídeo y médula ósea, procedentes de un receptor del hígado, dos receptores de riñón, dos receptores de córnea y del donante, así como de los familiares de primer grado de éste. La caracterización serológica se realizó mediante ELISA y

Westerblot de todas las muestras. Posteriormente se procedió a la caracterización genética de todos los casos salvo del donante al no poder obtener linfocitos suyos. Para el estudio genético se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación del ADN proviral en la región LTR y en la región codificante para las proteínas de la envuelta. El producto amplificado se visualizó en un gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio, se purificó y se cuantificó para su posterior utilización en la secuenciación. Las secuencias fueron alineadas mediante el programa Clustal X y analizadas filogenéticamente mediante el programa MEGA 2.1.

Resultados: Los resultados serológicos determinaron la presencia de anticuerpos frente a HTLV-I en las muestras del donante, y en las muestras de los receptores de riñón y de hígado. No se detectaron anticuerpos frente a HTLV-I en los receptores de córnea. En los familiares del donante sólo se detectaron anticuerpos en la madre. El análisis filogenético de las muestras diagnosticadas positivas a HTLV-I, determinó una secuencia de ADN común para todos ellos y por tanto un mismo origen.

Conclusiones: 1) Se ha detectado una transmisión múltiple de HTLV-I por transplante de órganos a partir de un donante, que a su vez fue infectado por transmisión vertical. 2) Es recomendable la realización de pruebas diagnósticas para detectar la infección por HTLV en donación de órganos.

Sesión 12 VIH (I). Epidemiología y clínica

243

EVOLUCIÓN DE LA EPIDEMIA VIH EN ANDALUCÍA A TRAVÉS DE ENCUESTAS HOSPITALARIAS DE PREVALENCIA, 1992-2000

E. Cañas, F. Jiménez-Oñate, A. Vergara, I. Suárez, M.D. Merino, A. Domínguez, J. Canueto, J.M. Kindelán, M.A. Martínez y A. Collado

GAEI. Serv. Enf. Infecciosas. H. Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: Describir la evolución de la epidemia VIH/sida en Andalucía en 1992-2000 a través de pacientes atendidos en los hospitales públicos.

Métodos: 12 estudios transversales de adultos infectados por el VIH atendidos en 23 hospitales. Se recogieron, mediante un protocolo codificado y confidencial, datos demográficos, epidemiológicos y sociales. Se realizó un análisis descriptivo utilizando el programa EPI-INFO v6.

Resultados: Se incluyeron 10.572 pacientes (que correspondieron a 8.436 personas no repetidas). La mediana de edad fue de 32 años y el 78% eran varones. El 70% había adquirido la infección a través del uso de drogas por vía parenteral, el 16% por vía heterosexual y el 10% mediante relaciones homo/bisexuales de riesgo. El 40% estaba diagnosticado de sida. La mediana de edad en el momento del diagnóstico de VIH fue de 28 años, y en el de sida, de 32 años, con un incremento de ambas a lo largo de la epidemia. La importancia relativa de las distintas categorías de transmisión se ha modificado en el transcurso de la epidemia: al estratificar por año de diagnóstico de VIH se ha detectado un aumento la proporción de pacientes infectados por vía heterosexual (hasta suponer el 39% de los diagnosticados en 1999-2000, superando a la de UDVP, 32%), mientras que esta tendencia es menos evidente en los pacientes con sida. El 72% tenían un nivel educativo bajo, el 43% vivían con sus padres, el 40% estaban laboralmente activos, el 37% tenían antecedentes de prisión y el 17% de las mujeres ejercían o habían ejercido la prostitución. El 47% de los pacientes referían una pareja

sexual estable en el momento de la encuesta. Mientras que en el 64% de las parejas estables de los UDVP el principal mecanismo potencial de adquisición de la infección era la vía heterosexual, el 45% de las parejas de los pacientes infectados por vía heterosexual eran UDVP.

Conclusiones: Los estudios transversales de base hospitalaria constituyen una herramienta útil para monitorizar la evolución de la epidemia VIH/sida desde una perspectiva regional.

244

DIFERENCIAS GEOGRÁFICAS EN LAS VÍAS DE TRANSMISIÓN Y EN LA EDAD AL DIAGNÓSTICO EN LOS PACIENTES INFECTADOS POR EL VIH DE LA COHORTE VACH

I. Suárez, J.M. Fajardo, P. Domingo, B. Roca, M.L. García-Alcalde, P. Geijo, A. Vergara, F. Lozano, R. Teira, P. Viciano, S. Pérez-Cortes, M.J. Galindo, J. Cosin, E. Ribera, J.R. Arribas y A. Menchero por el Grupo VACH

Hospital Infanta Elena. Enfermedades Infecciosas. Huelva.

Objetivos: Describir las diferencias geográficas en las características epidemiológicas de la población VIH+ de la cohorte VACH.

Pacientes y métodos: Estudio de cohorte (1.521 pacientes), descriptivo, observacional en base de datos clínica del Grupo Español de Estudios Multicéntricos (Grupo VACH), integrado por 14 hospitales de 8 Comunidades Autónomas. Definición de la Cohorte: Personas con fecha de diagnóstico VIH+ entre enero, 1998 y junio 2001.

Resultados: De los 1.521 pac VIH+: 74% varones. La mediana de edad era de 35 (17-80) en varones y de 31 (17-73) en mujeres. Distribución de la muestra por áreas: Andalucía 33%, Cataluña 20%, Madrid-Centro 17%, Levante 13%, Norte (Asturias-País Vasco) 18%. El patrón de transmisión heterosexual en los últimos años supera en porcentaje a los ADVP en las comunidades de Andalucía, Cataluña y Levante (43%, 47%, 44% frente a 37%, 21%, 38%). En Cataluña la transmisión Homosexual ocupa el segundo puesto (28% frente a 21% UDVP). La edad al Dx de VIH+ se desvía hacia la población adulta mayor de 39 años en todas las comunidades, aunque el grupo con mas afectados es el de 30-39. La distribución del VIH según categorías de transmisión en el año 2000 (365) difiere de la de casos SIDA (Informe semestral n1 2001): Varones VIH+: Heterosex. 37%, UDVP 30% y Homo 28% frente a 17%, 58% y 15% en casos SIDA. Mujeres VIH+ Heterosex. 74% y UDVP 19% frente a 40% y 48% en casos SIDA.

Conclusiones: Existen diferencias en la distribución según categorías de transmisión, entre las diferentes áreas geográficas analizadas. En general en todas las áreas aumenta la transmisión sexual que supera a la transmisión por UDVP. Las estrategias preventivas se deben orientar en cada comunidad, hacia los grupos de población en los que está aumentando la prevalencia de la infección por el VIH.

245

CAMBIO EN EL PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DE LA INFECCIÓN VIH EN LA BAHÍA DE CÁDIZ

M. Herrán, M. Cousinou, J.A. Gómez, R. Valiente, D. Selma, I. Trouillhet, M.A. Martín y A. Vergara

Unidad de Enfermedades Infecciosas Hospital Universitario de Puerto Real, Cádiz.

Objetivos: 1) Conocer nº de VIH diagnosticados en el período 1999-2001 en nuestra área. 2) Estudiar los mecanismos de transmisión, estado inmunológico, virológico y estadio CDC al diagnóstico. 3) Motivos de consulta y necesidad de trata-

miento, en un momento en que la infección VIH debería ser conocida por la población. 4) Comparar resultados con muestra aleatoria de pacientes VIH diagnosticados antes de 1999.

Método: Estudio retrospectivo, epidemiológico. Seleccionamos aquellos pacientes con diagnóstico entre 01/01/99 y 31/10/01 de la consulta del Hospital de día de E. infecciosas. Seleccionamos 63 pacientes al azar diagnosticados de infección VIH con anterioridad a 1999. Recogimos datos demográficos, vías de transmisión, estadiaje, estado inmunológico y virológico, necesidad de tratamiento y motivo que le llevó a contactar con nuestra unidad.

Resultados: Obtuvimos un total de 35 nuevos paciente: media de edad 35 años, 22 varones (62,8%) y 13 mujeres (37,8%). *Vías de transmisión:* 23 heterosexual HTX (65%), 7 UDVP (20%), 2 Homosexual HMX (6%), 1 transfusión sanguínea en Marruecos (3%) y 2 desconocidos (6%). En cuanto al *estadio CDC:* 7 A1 (20%), 6 A2 (17%), 4 A3 (11%), 1 B2 (3%), 8 B3 (23%) y 9 C3 (26%). El 60% era SIDA. 18 pacientes (52%) presentaron *cifras de CD4 < 200*, 12 (34%) entre 200-500 y 5 (14%) > 500. 15 pacientes (43%) *acudieron* por iniciativa propia, 8 (23%) remitido desde atención primaria, 6 (16%) por otro especialista, 3 (9%) desde urgencias, 2 (6%) por su pareja y 1 (3%) desde centro de rehabilitación de toxicómanos. De los 63 pacientes diagnosticados antes de 1999: *edad media* 35 años, 79% varones y 21% mujeres. La principal *vía de transmisión* con 61% UDVP, 25% HTX, 10% HMX y 2% bisexual. *Estadio CDC:* 36% A2, 10% A3, 8% B2, 14% B3, 2% C1 y 30% C3. El 56% SIDA.

Conclusiones: 1) La edad media fue similar; con aumento de mujeres de reciente diagnóstico con respecto al grupo control. 2) La principal vía de transmisión en nuestro medio es heterosexual, habiendo virado del 61% de pacientes infectados por UDVP con anterioridad a 1999, al 65% por relaciones heterosexuales no protegidas en el período 99-01. 3) El 86% de los pacientes requerían inicio de TARGA al ser diagnosticado. 4) Todo ello hace necesario un mayor esfuerzo en las campañas de prevención sanitarias, dirigidas sobre todo a la transmisión por vía sexual de la infección VIH.

246

SUBTIPOS DE VIH CIRCULANTES MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA SECUENCIA DEL GEN POL

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

Hospital San Cecilio. Granada.

Objetivos: Conocer el subtipo de VIH-1 circulante empleando la secuencia del gen *pol* y comparar los resultados ofrecidos por tres sistemas diferentes de alineamiento.

Métodos: Hemos estudiado 43 pacientes con infección VIH-1 conocida, mujeres y varones, procedentes de la Unidad de Enfermedades Infecciosas de nuestro hospital. En todos ellos se transcribió un fragmento de 1,3 Kb del gen *pol* que posteriormente se amplificó mediante PCR. De este producto de amplificación se secuenció el gen de la proteasa (codones 10 a 99) y parte de la transcriptasa inversa (codones 41 a 239), mediante secuenciación bidireccional con primers marcados con Cy5.5 y Cy5.0 usando un secuenciador semiautomático (Visible Genetics Inc, Opengene System). Las secuencias obtenidas para la proteasa y transcriptasa inversa se analizaron mediante un nuevo método de subtipado que compara nuestra secuencia problema con las secuencias de referencia para los distintos subtipos, empleando el algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) y el análisis filogenético (Los Alamos Database). Además, se ha analizado la secuencia mediante dos métodos más que permiten conocer el subtipo a partir de la secuencia del gen *pol*, los algoritmos de ABL networks y el de la base de datos de Stanford.

Resultados: Se identificó el subtipo B puro en 68% de los pacientes mediante Los Alamos y en 95% mediante ABL y

Stanford. La base de datos de los Alamos permitió identificar mezclas en un 21% de las muestras. En un paciente se identificó un CRF 02 A-G mediante ABL y Stanford, que se correspondía con una mezcla mediante la base de datos de Los Alamos.

Conclusión: Al estudiar la secuencia del gen pol se confirma la mayor introducción de subtipos B en nuestro medio. El análisis del gen pol puede resultar de utilidad para realizar el cribado de la población VIH en busca de Formas Circulantes Recombinantes, aunque estas se deben confirmar mediante secuenciación de regiones genómicas más amplias.

247

IDENTIFICACIÓN DE SUBTIPOS NO-B DEL VIH TIPO 1 EN LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

A. Álvarez*, A. Holguín*, M.J. Pena**, F. Artilles**, L. Molina** y V. Soriano*

*Hospital Carlos III, Madrid. **Hospital de Gran Canaria Dr. Negrín, Las Palmas.

Introducción: Debido a su gran variabilidad genética, el VIH-I se ha subdividido en 9 subtipos diferentes (A-D, F-H, J, K). El subtipo B es el más frecuente en España y Europa Occidental, mientras que los subtipos no-B se encuentran mayoritariamente en África. Últimamente se ha incrementado el número de subtipos no-B en nuestro país. Este fenómeno se debe al aumento de la inmigración de africanos en España y con ello la posibilidad de conductas de riesgo con individuos procedentes de países donde estos subtipos prevalecen. Las Islas Canarias son un punto importante de entrada de Africanos en España. El objetivo de éste estudio es detectar la presencia de subtipos no-B en un grupo de pacientes infectados por el VIH-I, mayoritariamente Africanos y residentes en Las Palmas de Gran Canaria.

Material y métodos: Extraemos el virus a partir del plasma sanguíneo de 33 pacientes VIH-I+, amplificamos por PCR el gen de la proteasa (297 pb) y secuenciamos dicho gen. Caracterizamos el subtipo genético por análisis filogenéticos usando el programa Neighbor-Joining.

Resultados: Los análisis filogenéticos revelaron la presencia de 3 subtipos diferentes del VIH-I: 13 B (39,3%) 14 G (42,4%), 4 A (15,2%). Un subtipo resultó ser A o C. Por ello, el nº de subtipos no-B detectado en Las Palmas fue de 20/33 (60,6%). De los subtipos no-B detectados, el 75% (16/20) eran procedentes de 7 países diferentes del continente africano, 2 eran rusos (ADVPs) y otros 2 españoles. Entre los 20 pacientes infectados por subtipos no-B, el 45% (9/20) habían adquirido el VIH-1 por vía heterosexual.

Conclusiones: Los resultados confirman la presencia de subtipos no-B del VIH-1 en Gran Canaria entre inmigrantes del continente africano. También se descubren 2 pacientes españoles con subtipo G y 2 rusos con subtipo A (frecuente en Rusia). Este trabajo representa el primer estudio de detección de subtipos no-B del VIH-I en Las Islas Canarias y los datos son importantes para conocer mejor la epidemiología molecular del virus en España.

248

SUBTIPOS DE VIH DETECTADOS EN PACIENTES ESTUDIADOS EN EL ÁREA HOSPITALARIA DE SEVILLA

J.M. Rodríguez, M.J. Torres, J. Aznar y J.C. Palomares
Hospital Universitario Virgen Macarena, Sevilla.

Objetivos: Realizar el estudio de los subtipos de las cepas encontradas en nuestra zona del Virus de la Inmunodeficiencia Humana para el análisis epidemiológico de la infección por VIH.

Materiales y métodos: Se obtuvieron las secuencias del gen de la proteasa (*pr*) y la retrotranscriptasa (*rt*) del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) en muestras de plasma sanguíneo pertenecientes a un total de 47 pacientes y 2 controles de subtipo B conocido. Todos los pacientes habían sido estudiados en el área hospitalaria de Sevilla. La secuenciación de los genes *pr* y *rt* se realizó con el sistema comercial TRUGENE™ HIV-1 Genotyping Kit (Visible Genetics Inc., Toronto, Canadá) y con el uso de un secuenciador automático. La subtipación de la secuencia de estos genes fue realizada con la base de datos ABL (Advanced Biological Lab., Luxemburgo), mediante el programa i-Subtyping.

Resultados: De los 47 pacientes analizados, el 95,7% (45 pacientes) pertenecían al subtipo B del VIH-I. Estos pacientes presentaban una homología entre el 90% y el 97,3% con el subtipo B para el gen *pr*, y entre el 90,8% y el 97,7% para el gen *rt*. Por otro lado, se hallaron 2 pacientes cuyas secuencias pertenecían al subtipo CRF02_AG. Para el primero, la homología del gen *pr* respecto del subtipo CRF02_AG fue del 95,5%, mientras que para el gen *rt* fue de un 93,9%. El segundo caso de subtipo CRF02_AG presentó una homología del 95,1% para el gen *pr* y del 93,3% para el gen *rt*.

Conclusiones: 1) La mayoría de los pacientes pertenecientes al área hospitalaria de Sevilla se encuentran infectados por VIH-1, subtipo B. 2) Los dos casos de VIH-I subtipo CRF02_AG son en realidad VIH-I correspondientes al grupo M, pudiendo ser subtipo A o subtipo G. 3) El subtipo CRF02_AG se encuentra muy extendido en diferentes zonas de África, por lo que presuntamente ha sido introducido desde algunos de estos países por los pacientes estudiados.

249

EVOLUCIÓN INMUNOLÓGICA Y CLÍNICA DE LA INFECCIÓN POR EL VIH EN ANDALUCÍA, 1992-2000

E. Pujol, M.A. Colmenero, M. Castaño, B. Valera, J. Santos, J.J. Hernández-Burruezo, M.J. Jiménez-Arjona, M. Delgado, J. Benítez y A. Terrón

GAEL. Serv. Med. Interna. H. Juan Ramón Jiménez. Huelva.

Objetivo: Analizar la evolución inmunológica, virológica y clínica de la población infectada por el VIH atendida en los hospitales públicos de Andalucía en el período 1992-2000.

Métodos: 12 estudios transversales de adultos con infección por el VIH atendidos en 23 hospitales. Se recogieron, mediante un protocolo codificado y confidencial, datos clínicos, inmunológicos y virológicos. Se realizó un análisis descriptivo utilizando el programa EPI-INFO v6.

Resultados: El 40% de los 10.572 pacientes incluidos estaban diagnosticados de sida; la mediana de linfocitos CD4 en el momento del estudio fue de 299/µL, y el 43% tenían menos de 200/µL. En los últimos años se ha constatado un aumento de dicha mediana (221 CD4/µL en 1992 frente a 356/µL en el 2000), así como una disminución de la proporción de pacientes con menos de 50 CD4/µL (del 26% en 1995 al 7,6% en el 2000). El 27% de los pacientes atendidos en 1997 tenían una carga viral plasmática (por PCR o equivalente) inferior a 200 copias/mL, porcentaje que ascendió al 50% en el 2000. El 22% de los pacientes atendidos padecía o había padecido una tuberculosis (que fue la enfermedad definitoria en el 44% de los pacientes con sida), el 36% una candidiasis orofaríngea, el 14,3% una candidiasis esofágica, el 14,3% una neumonía bacteriana, el 9,9% una neumonía por *P. carinii* y el 8,3% una infección por varicela-zóster. El 20% de los pacientes incluidos en 1992 recibían tuberculostáticos frente al 4,6% en el 2000. Finalmente, el 46% de los atendidos en 1999-2000 padecía una hepatopatía crónica sintomática, fundamentalmente asociada a VHC.

Conclusiones: Se ha constatado una mejoría inmunológica, virológica y clínica de la población atendida a partir de 1996. Existen datos indirectos de que la incidencia de tuberculosis

está disminuyendo, a la vez que otros procesos, como la hepatopatía crónica por VHC, están cobrando un mayor protagonismo.

250

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICAS DE LA INFECCIÓN POR VIH

M.J. Pena, F. Artilles, D. García, M.A. Cárdenes, J.M. Zarzalejos, M. Armas, I. Alarcón y B. Lafarga

Hospital de Gran Canaria Doctor Negrín. Las Palmas.

Objetivo: Conocer las características clínico-epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de infección por VIH desde la introducción de la terapia antirretroviral de alta eficacia.

Métodos: *Población de estudio:* todos los pacientes diagnosticados de infección por VIH en un área sanitaria (377.217 habitantes) de la isla de Gran Canaria entre el 1 de enero de 1998 y el 31 de diciembre de 2000. *Datos clínico-epidemiológicos:* edad, sexo, país de origen, factor de riesgo y estadio de infección por VIH en el diagnóstico. *Métodos estadísticos:* pruebas de χ^2 (variables categóricas) y de Anova (variables continuas).

Resultados: Durante el período de tiempo de estudio se diagnosticaron 175 pacientes (70 en 1998, 61 en 1999 y 44 en 2000). Ciento treinta y cuatro pacientes (76,6%) fueron varones y 41 (23,4%) mujeres. La edad media fue significativamente menor ($p < 0,001$) en mujeres ($34,0 \pm 10,9$ años) que en varones ($41,2 \pm 10,9$ años). El 61,0% de las mujeres se diagnosticó con menos de 35 años frente al 29,1% de los varones ($p < 0,001$). El principal factor de riesgo de infección fue el contacto sexual (65,7%: 34,9% heterosexual y 30,9% homosexual). El segundo factor de riesgo fue la ADVP, con una disminución en el número de casos en los diferentes años (24,3% de los diagnosticados en 1998, 13,1% en 1999 y 9,1% en 2000). Treinta y tres pacientes eran inmigrantes (18,9%), el 14,3% de los diagnosticados en 1998, 18,0% en 1999 y 27,3% en 2000. Veintitrés pacientes eran de origen africano. Cien pacientes (57,1%) presentaron criterios de SIDA en el momento del diagnóstico y sólo 40 (22,8%) se clasificaron en el estadio inmunológico 1.

Conclusiones: 1) El número de casos de infección por VIH está disminuyendo a pesar del impacto de la inmigración. 2) El principal factor de riesgo es el contacto sexual. 3) El porcentaje de pacientes diagnosticados en estadios iniciales de la infección es bajo, por lo que habrá que extremar las medidas de vigilancia.

251

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES, INFECTADOS POR EL VIH, HOSPITALIZADOS EN LA ERA PRE-HAART Y HAART

I. Coca, E. Castell, R. Palacios, J. Ruiz, M. González, J. Santos y M. Márquez

Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga.

Objetivo: Conocer las diferencias entre los pacientes VIH, hospitalizados en un área médica, en la era pre-HAART (1995) y HAART (2000).

Método: Análisis descriptivo y retrospectivo de los informes de alta o mortalidad de los pacientes, infectados por el VIH, ingresados en la Unidad de Enfermedades Infecciosas de un Hospital de tercer nivel, durante los años 1995 y 2000. Se recogieron en una plantilla datos epidemiológicos y los diagnósticos al alta.

Resultados: Analizamos 558 ingresos de 396 pacientes. Datos epidemiológicos 1995/2000: 366/192 ingresos, pacientes 252/144; edad media 33,7/37 años; grupo CDC: C 65,7/47,1%,

A 27,5/47,1%; tratamiento antirretroviral 26,7/37,2%; media CD4 97/192; fallecidos 12,8% (47)/8,4% (16). Diagnósticos 1995/2000: criptosporidiasis 3/0, criptococosis 4/0, citomegalovirus 17/0, masa cerebral 4/0, encefalopatía VIH 20/7, LMP 11/3, Linfoma no Hodgkin 10/3, *P. carinii* 19/8, Sarcoma de Kaposi 11/2, tuberculosis diseminada 37/6, tuberculosis pulmonar 19/9, toxoplasmosis 9/6, bacteriemia/fungemia 10/14 (4 *S. epidermidis*, 3 neumococo, 3 otros/3 *Pseudomonas aeruginosa*, 2 neumococo y *E. coli*, otros 7), leishmaniasis visceral 6/5, meningitis 12/3 (7 tuberculosis, 4 criptococo, 1 candida/1 tuberculosis, 2 candida), candidiasis esofágica 32/11, neumonía 49/36, fiebre de corta duración 26/11, infección respiratoria baja no condensante 30/14, hepatopatías 5/7, B. hepáticas 0/12.

Conclusiones: 1) Se ha producido un descenso casi del 50% del número de pacientes e ingresos y 2/3 en la mortalidad. 2) Actualmente los pacientes están menos inmunodeprimidos y casi el 50% están en el grupo A de la CDC. 3) Las I.O. asociadas a mayor inmunosupresión (criptosporidiasis, criptococosis y citomegalovirus) han desaparecido. Se mantienen bacteriemias, leishmaniasis, neumonías y hepatopatías y el resto de I.O. desciende en especial la tuberculosis, candidiasis esofágica y afectación del SNC, como motivos de ingreso.

252

SITUACIÓN CLÍNICA, INMUNO-VIROLÓGICA Y CALIDAD ASISTENCIAL DE PACIENTES VIH EN LA POBLACIÓN RECLUSA

M. Torralba, M.E. Barrero, M.J. Domínguez, P. García, A. Costa, C. Cepeda, F. Pulido, J.R. Costa y R. Rubio

Hospital 12 de Octubre, Unidad VIH (Medicina Comunitaria), Medicina Interna. Madrid.

Objetivos: Nuestro objetivo fue analizar la situación clínica e inmunológica de la población reclusa y estudiar la calidad de la atención ofrecida a los presos en nuestra Unidad.

Diseño: Estudio de cohortes retrospectivo con grupo control. Se estudió a la población reclusa vista en la Unidad VIH durante el año 2000 y con un seguimiento mínimo de 4 meses. Un grupo control se reclutó con pacientes varones, de edad similar, con proporción 1:1.

Resultados: Se analizaron 79 reclusos y 79 controles. La mediana de edad fue de 33 y 34 años respectivamente ($p = ns$). El mecanismo de transmisión fue ADVP un 92% frente a un 75% en el grupo control, ($p < ,001$). No hubo diferencias en los dos grupos en la proporción de SIDA, nadir de CD4 ni en el número de fracasos virológicos. Los reclusos habían padecido más tuberculosis que los controles ($p = 0,028$. IC 95% 1,085-5,212). El porcentaje de pacientes con carga viral indetectable era significativamente menor ($p < 0,02$) en el grupo de los reclusos en tres cortes trasversales realizados cada 4 meses (1^{er}, 2^o, 3^{er} corte: 32 vs 62%; corte: 45 vs 72%; corte 52 vs 73% respectivamente) que en los controles. Inmunológicamente, los presos presentaban mayor deterioro que los controles ($p < 0,05$) con medias de CD4 en la 1^a, 2^a y 3^a determinación de 344 vs 443, 356 vs 442 y 399 vs 490 CD4/ml respectivamente. La mediana de tiempo entre la realización de pruebas complementarias y la consulta programada fue mayor en los presos que en los controles: 50 frente a 31 días ($p < 0,001$). En un 33% de presos no se disponía en la consulta de todas las pruebas complementarias solicitadas en la visita anterior frente a un 6% en los controles ($p < 0,001$). En n^o de consultas programadas/año fue mayor en los controles que en los presos 4,5 vs 2,9 consultas año ($p < 0,001$). El n^o de veces que el paciente no acudió a la consulta fue mayor en reclusos que en controles 1,6 vs 1,1 citas/año ($p = 0,007$).

Conclusiones: Los presos presentan una situación clínico e inmuno-virológica con mayor deterioro que los controles, así como una merma en la calidad de la atención prestada.

253

MORTALIDAD DE LAS PERSONAS INFECTADAS POR VIH EN LA ERA DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL DE GRAN ACTIVIDAD

A. Milinkovic, E. Martínez, J.B. Pérez-Cuevas, E. de Lazzari, J.L. Blanco, M. García, J. Murillas, J. Mallolas, J.M. Miro, E. Buirá* y J.M. Gatell

Hospital Clínic, *Departament de Sanitat, Generalitat de Catalunya, Barcelona.

Objetivos: Conocer la incidencia y las causas de mortalidad de las personas infectadas por el VIH en la era del tratamiento antirretroviral de gran actividad (TARGA).

Métodos: Análisis prospectivo de la mortalidad en la cohorte de pacientes adultos (>=18 años) infectados por el VIH con acceso rutinario al TARGA en el Hospital Clínic de Barcelona (1997-2001) y comparación de la incidencia y de las causas de mortalidad con las de la población general del mismo área geográfica ajustada para edad (fuente: www.idescat.es).

Resultados: La cohorte pasó de 1.605 (1997) a 2.069 pacientes activos (2000), con una mediana de edad de 34 años (rango intercuartil: 0-20) y una ratio varón:mujer de 3:1. La mediana de meses hasta la muerte fue 6 (rango intercuartil: 0-40). La incidencia de mortalidad (por 100 personas/año) de la cohorte decreció desde 3,2 (1997) a 0,9 (2000), mientras que la de la población adulta general permaneció estable (1-1,1). Las causas de muerte fueron infecciones oportunistas (n = 84, 54%), hepatopatía (n = 22, 14%), neoplasia (incluyendo linfoma) (n = 21, 13%), infecciones generales (n = 13, 8%), enfermedad cardiovascular (n = 8, 5%) y otras o desconocida (n = 9, 6%). La incidencia anual de mortalidad por infecciones oportunistas disminuyó progresivamente. La mortalidad proporcional estandarizada en Cataluña por enfermedades digestivas incluyendo hepatopatía fue 5%, neoplasia 28%, infecciones generales 1%, y enfermedad cardiovascular 35%. La mortalidad de la cohorte por infecciones generales y por hepatopatía fue 10 y 7 veces respectivamente superior a la de la población general, mientras que por neoplasia y por enfermedad cardiovascular fue 2,6 y 4 veces superior en la población general respectivamente. La mortalidad temprana (< 6 meses del comienzo del TARGA) estuvo significativamente asociada a morir a causa de una infección oportunista y haberse infectado por uso parenteral de drogas (regresión logística múltiple).

Conclusiones: La incidencia de mortalidad de los adultos infectados por VIH ha disminuido hasta cifras similares a las de la población general, pero las causas son diferentes. Las infecciones oportunistas siguen siendo la causa más frecuente de mortalidad en los adultos infectados por VIH especialmente en los primeros 6 meses de tratamiento. Las personas infectadas por el VIH tienen un exceso de mortalidad a causa de infecciones generales y hepatopatía en comparación a la población general.

tudiados y para cada rúbrica de la lista se calcula la tasa bruta (TBM) y las tasas específicas (TEM) por sexo y edad utilizando como denominador la población del padrón municipal de habitantes del año 1996. También se calculan las tasas estandarizadas utilizando el método directo y tomando como población de referencia la teórica europea. Por último se obtienen los APVP que las diferentes causas de muerte generan si ésta se produce en el intervalo de edad 1-69 años. Con la información proporcionada por las tasas y los APVP se construyen los patrones/modelos de mortalidad y de APVP para valorar la importancia que el SIDA tiene en el conjunto de la mortalidad del País Valenciano en el periodo 1991-1998.

Resultados: En el periodo estudiado la TBM por todas las causas fue de 0,008642 def. por hab/año y las TME de 0,009378 en los varones y 0,007937 en las mujeres. Las defunciones por SIDA se cifraron en 3.416 con una TBM de 0,001725 y TME de 0,000368 en los varones y 0,000042 en las mujeres. En el patrón de mortalidad el SIDA ocupa el lugar 24 (12 en los varones y 30 en las mujeres). Al analizar el patrón de APVP el SIDA escala posiciones y se encuentra el lugar 2 (2 en los varones y 3 en las mujeres). Si se analizan grupos de edad jóvenes las defunciones por SIDA en el patrón de mortalidad adquiere un peso mayor encaramándose en estos grupos a la primera posición en ambos sexos.

255

NEUMONÍA DE ADQUISICIÓN COMUNITARIA (NAC) EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH EN LA ERA DE TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL DE ALTA EFICACIA (TARGA)

E. Cordero, J. Pachón, A. Rivero, J.R. Palacios, L. Aliaga, J. Gómez-Mateos, M. Torres-Tortosa, A. Domínguez, A. Collado, J.A. Girón, R. Valiente, S. Alcaraz y E. Nuño. Grupo para el estudio de Enfermedades Infecciosas

Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivos: Analizar las características de las NAC en pacientes con infección por el VIH tras la generalización del TARGA.

Métodos: Estudio prospectivo, observacional y multicéntrico de casos consecutivos de NAC en pacientes con infección por el VIH. Período de inclusión: 07/2000 a 09/2001.

Resultados: Se han incluido 408 episodios de NAC en este periodo, de los cuales 256 fueron bacterianas y 151 no bacterianas. La edad media fue de $36,5 \pm 7,3$ años. El 86% fumaban tabaco, 44,7% eran usuarios de drogas por vía inhalatoria y 16% por vía intravenosa. El 20,6% consumían en exceso alcohol y el 30,3% presentaba alguna enfermedad subyacente. En 43 enfermos (10,5%) la infección por el VIH era desconocida con anterioridad a la NAC. El 61% había sido diagnosticado previamente de SIDA, la mediana de CD4+ fue 78/ul y el 11,9% de los pacientes tenían < 500 c/ml de ARN-VIH. El 27,4% realizaban TARGA y el 19,5% profilaxis frente a *Pneumocystis carinii*. Se obtuvo diagnóstico etiológico en 130 casos (50,8%) de NAC bacterianas. Las etiologías más frecuentes fueron: *Streptococcus pneumoniae* 42 (33,3%), *Haemophilus influenzae* 20 (15,6%), *Pseudomonas aeruginosa* 13 (10,6%), *Salmonella* spp. 8 (6,2%), bacilos gramnegativos 34 (26,4%), *Staphylococcus aureus* 12 (9,5%), *Rhodococcus equi* 5 (3,9%), polimicrobiana 17 (13,4%). En las NAC no bacterianas los agentes más frecuentes fueron *P. carinii* 88 (58,2%) y *Mycobacterium tuberculosis* 67 (44,3%). El 20,1% de las NAC bacterianas fueron bacteriémicas. El tratamiento empírico fue correcto en el 77,9%. La mediana de duración de la fiebre tras tratamiento fue de 2 días en las NAC bacterianas y de 4 días en las no bacterianas. La mortalidad global de las neumonías fue del 9,5%, siendo 9,1% en las bacterianas y 10,1% en las no bacterianas. En las NAC bacterianas no existió relación entre el antibiótico prescrito y la mortalidad.

254

LA MORTALIDAD POR SIDA EN EL PAÍS VALENCIANO 1991-1998

L.F. Sanjuán

Departament d'Infermeria. Universitat de València.

Objetivos: Se estudia el impacto de la mortalidad por SIDA en el País Valenciano en el periodo 1991-1998.

Material y método: Se estudian las variables sexo, causa de muerte y edad en el conjunto de defunciones de los residentes en el País Valenciano en el periodo 1991-1998. Las causas de muerte se analizan en su conjunto y para cada una de las rúbricas de la Lista Abreviada de la Comunidad Valenciana. Para obtener indicadores más estables que los que corresponderían a un solo año se agrupan los ocho años es-

Conclusiones: Las NAC ocurren en pacientes muy inmunodeprimidos y poco cumplidores del TARGA, por lo que ni la etiología ni el pronóstico de las NAC se han modificado sustancialmente.

256

PREDICTORES DE NEUMONÍA DE ADQUISICIÓN COMUNITARIA BACTERIANA RESPECTO A LAS NO BACTERIANAS EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH

E. Cordero, J. Pachón, A. Rivero, J. Santos, L. Aliaga, J. Gómez-Mateos, M. Torres-Tortosa, A. Domínguez, A. Collado, J.A. Girón, R. Valiente, S. Alcaraz y E. Nuño. Grupo para el estudio de Enfermedades Infecciosas

Hospitales Universitarios Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivos: Identificar características basales que ayuden en el diagnóstico diferencial de NAC bacteriana vs. no bacteriana en pacientes con infección por el VIH.

Métodos: Estudio prospectivo, multicéntrico, observacional de casos consecutivos con NAC e infección por el VIH. Período de inclusión: julio/00-septiembre/01. Análisis bivariado y multivariado.

Resultados: Se incluyeron 408 NAC (256 bacterianas y 151 no bacterianas). Ambos grupos fueron comparables en edad, sexo, enfermedades subyacentes, hábitos tóxicos y riesgo para la infección por el VIH. Los pacientes con NAC bacteriana estaban significativamente menos inmunodeprimidos (CD4+ 132/ul vs 47/ul), tenían menor carga viral (73.100 vs 106.000 c/ml) y recibían con mayor frecuencia tratamiento antirretroviral (38,4% vs. 15,4%) y profilaxis frente a *P. carinii* (24,4% vs. 11,4%). En relación a la sintomatología, las NAC bacterianas presentaban con mayor frecuencia dolor torácico (59% vs. 36%), expectoración purulenta (61,7% vs. 21,4%), hipotensión (14,7% vs. 7,4%) y un cuadro clínico más recordado (duración de fiebre 4 vs. 12 días). La disnea fue más común en las NAC no bacterianas (42% vs. 36%). En los estudios radiológicos, las NAC bacterianas se caracterizaron por presentar un patrón alveolar (76,5% vs. 10,1%) con afectación \leq 1 lóbulo (70,3% vs. 18,2%). En el análisis multivariado, los factores predictores independientes fueron: fiebre $<$ 7 días, OR 2,4 (1,3-4,5), expectoración purulenta OR 4,3 (2,2-8,1), patrón alveolar, OR 11,2 (5,2-24,1) y afectación \leq 1 lóbulo, OR 2,5 (1,2-5,2). La combinación de variables predictoras con mayor sensibilidad y especificidad fueron afectación alveolar \leq 1 lóbulo y fiebre $<$ 7 días (sensibilidad 52,7%, especificidad 95,4%, VPP 94,5%, VPN 53,1%).

Conclusiones: La asociación de síntomas y signos obtenibles en la primera evaluación del paciente con NAC e infección por el VIH, puede predecir la etiología bacteriana con una elevada probabilidad, y con ello orientar el tratamiento empírico de un proceso que requiere un tratamiento apropiado precoz.

257

ENFERMEDAD DEL LEGIONARIO (EL) EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR EL VIH

M.J. Domínguez, M.L. Pedro-Botet, N. Sopena, G. Sirera, E. Reynaga, Z. Vilaseca, M. García-Nuñez, J. Domínguez, C. Rey-Joly y M. Sabriá

Unidad de Enfermedades Infecciosas y Servicio de Microbiología. Hospital Universitari Germans Trias i Pujol de Badalona. Barcelona.

La EL ha sido descrita infrecuentemente en paciente infectados por el VIH.

Objetivos: 1) Descripción de 15 casos de EL en pacientes VIH+ y 2) Cálculo de la incidencia de EL nosocomial en pacientes VIH+ (período 1997-2000).

Métodos: 1) Análisis retrospectivo de los casos de EL/infección por VIH atendidos en el HUGTiP desde 1983, 2) vi-

gilancia activa de la neumonía nosocomial por *Legionella* desde enero 1997 hasta diciembre 2000.

Resultados: Desde 1983, 15 pacientes presentaron EL (11 de adquisición comunitaria y 4 de origen nosocomial; rango de edad 26-60 años; 80% varones). El recuento de linfocitos CD4+ fue $>$ a $0,2 \times 10^9/l$ en 9 (64,2%) pacientes y 8 (57%) presentaron criterios de Sida. Diez pacientes (77%) recibían TARGA y 1 (7%) profilaxis con TMP/SMX. La mayoría (13/15) presentaron síntomas respiratorios. Al inicio once (78,5%) presentaron insuficiencia respiratoria ($pO_2 <$ 60 mmHg). Las manifestaciones extrarrespiratorias se observaron en 7 casos (diarrea y confusión). Destacaron la hiponatremia grave (8/15), el aumento de las CK (8/15) y la elevación de las GOT (11/15). Al inicio, 11 presentaron infiltrados unilobares y 5 otras manifestaciones radiológicas. Se observó progresión radiológica en 5 y 1 recidivó. La mortalidad directamente relacionada fue del 20%. Desde enero de 1997 hasta diciembre de 2000, 74.012 pacientes VIH- y 2.016 VIH+ requirieron ingreso hospitalario en nuestro centro. Durante este período se diagnosticaron 89 y 2 casos nosocomiales de EL (incidencia: 0,25/1.000 ingresos/año y 0,3/1.000 ingresos/año: $p = 0,42$) en pacientes VIH- y VIH+ respectivamente.

Conclusiones: 1) La mortalidad y morbilidad de la EL en pacientes con infección por VIH, incluso con deterioro ligero de la inmunidad, son elevadas. 2) La incidencia de neumonía nosocomial por *Legionella* en pacientes con infección por VIH es similar a la que presentan los pacientes no infectados.

258

MODIFICACIONES EN LA CARGA VIRAL EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH TRAS LA VACUNACIÓN ANTINEUMOCÓCICA

R. Palacios, I. Viciano, J. Ruiz, M. González, E. Clavijo, M. Márquez y J. Santos

Hospital Virgen de la Victoria. Málaga.

Objetivo: Analizar en pacientes VIH asintomáticos y naïve las posibles variaciones en la carga viral (CV) del VIH y en el recuento de linfocitos CD4 (CD4) tras recibir la vacunación antineumocócica.

Pacientes y método: Estudio abierto, aleatorizado y comparativo para evaluar los cambios en la CV del VIH y recuento de CD4 en pacientes con infección por VIH tras la vacunación antineumocócica (*Pneumo 23* de Pasteur Mérieux, Lyon-Francia). Todos los pacientes deberían estar asintomáticos, ser naïve y con un número de CD4 mayor de 200/ml. Se excluyeron del estudio individuos toxicómanos. Los pacientes incluidos fueron randomizados (razón 1:1) para recibir la vacuna antineumocócica el día 0 (Grupo A) o el día 28 (Grupo B). Se determinó la carga viral (*Amplicor® de Roche*) los días 0, 7, 14 y 28 y las subpoblaciones linfocitarias (Citómetro de flujo Facscount™ System de Becton Dickinson) los días 0, 14 y 28. El estudio estadístico se realizó con el programa SPSS®.

Resultados: Fueron incluidos en el estudio 40 pacientes (20 en cada grupo). Varones 32, edad media 37,7 años (17-77), riesgo VIH: HMX 18, HTS 14 y ADVP 8. Media CV y CD4 basales $4,69 \pm 0,74 \log_{10}$ y $400 \pm 248 \times 10^6/l$. No había diferencias significativas en los parámetros basales entre ambos grupos. La comparación de muestras pareadas (CV y CD4) del grupo A en el día 0 y día 28 no mostró diferencias significativas (CV 4,52 vs 4,60; $p = 0,47$. CD4 369 vs 447; $p = 0,19$) El contraste de la CV entre ambos grupos tampoco mostró diferencias significativas los días 7 (4,18 vs 4,83; $p = 0,12$), 14 (4,61 vs 4,90; $p = 0,26$) y 28 (4,60 vs 4,71; $p = 0,73$). Tampoco había diferencias en el número de CD4 entre los dos grupos el día 28 (447 vs 428; $p = 0,86$)

Conclusiones: La vacunación antineumocócica en pacientes VIH asintomáticos, con más de 200 linfocitos CD4 y naïve no provoca alteraciones significativas en la CV ni en el recuento de linfocitos CD4.

259

BACTERIEMIA NEUMOCÓCICA EN PACIENTES CON INFECCIÓN VIH. ESTUDIO DE 53 CASOS

T. Bosch*, A. Payeras, L. Martín, M. Riera, M. Rotger, C. Cifuentes*, C. Gallegos y C. Villalonga
Hospital Son Dureta y *Centre Hospitalari de Mallorca.

Objetivo: Describir las bacteriemias neumocócicas en pacientes con infección VIH comparando sus características antes y después de la era TARGA.

Material y métodos: Revisión retrospectiva de las bacteriemias por *S. pneumoniae* desde 1995 hasta junio 2001 en 2 centros hospitalarios de Mallorca.

Resultados: Se revisaron 53 episodios correspondientes a 50 pacientes (43 varones y 7 mujeres) con edad media de 36,7 (DS 9,01) años. Tenían antecedentes de ADVP 39 pacientes (17 de ellos activos). En 15 de los episodios los pacientes estaban siguiendo programa de mantenimiento con metadona. La media de linfocitos CD4 fue de 295,3 cels/mm³ y la PCR VIH de 117.317,5 copias/ml. Como enfermedades de base destacaban hepatopatía crónica por VHC en 34 pacientes y enolismo crónico 18. Se constató el antecedente de neumonía bacteriana previa en 26 episodios y 10 pacientes habían recibido vacunación antineumocócica con una media de 40,4 (DS 48,7) meses antes del episodio de bacteriemia. El origen de la bacteriemia fue extrahospitalario en 45 episodios siendo la neumonía el foco de sepsis más frecuente (40 episodios). Las complicaciones observadas fueron: insuficiencia respiratoria aguda (28), shock séptico (7), foco séptico a distancia (2) y endocarditis (1). Fueron exitus 3 pacientes. El porcentaje de resistencia a penicilina fue del 34%, eritromicina 18,9%, cefuroxima 5,7%, cotrimoxazol 28,3% y tetraciclinas 5,7%. Únicamente el antecedente de haber presentado algún episodio de neumonía bacteriana previa o haber sido vacunado frente a neumococo se observó con más frecuencia en la era TARGA.

Conclusiones: No se ha observado un descenso en la frecuencia de bacteriemia neumocócica en pacientes con infección VIH en la era TARGA. En la actualidad existe un grupo de pacientes especialmente predispuestos a presentar bacteriemia neumocócica: ADVP con antecedentes de episodios de neumonía bacteriana previa y mal control de su infección VIH.

260

BACTERIEMIAS EN VIH EN LA ÉPOCA PRETARGA Y TARGA

F.J. Rodríguez Gómez, I. Chaparro, J. Saavedra, J.M. Lomas, D. Merino, R. Creagh y E. Pujol
Hospital Juan Ramón Jiménez. Medicina Interna y Microbiología. Huelva.

Objetivos: Valoración de las diferencias epidemiológicas, clínicas y microbiológicas sucedidas en las bacteriemias en pacientes VIH antes y después de la introducción del TARGA.

Material: Revisamos de forma retrospectiva, a través de las historias clínicas y base de datos, las bacteriemias en pacientes VIH recogidas entre enero 1990 y junio 1994, así como las bacteriemias sucedidas entre enero 1997 y junio 2001. Estudiamos las prácticas de riesgo para la infección VIH, cumplimentación del TARGA, situación inmunológica y aislamiento microbiológico en sangre.

Resultados: Primer período: 55 episodios en 54 pacientes. Edad media 31. ADVP 84,4%, homosexuales 7,2%. Adquisición comunitaria 93%. Gérmenes más frecuentemente aislados: *S. aureus* (28,8%), *S. pneumoniae* (20%), y *Salmonella* sp. (16%). Focos más frecuentes: endocarditis (21,4%), intestinal (21,4%) y respiratorio (17,9%). Media de CD4 159, (2-680). Período actual: 42 episodios correspondientes a 35 pacientes. 30 ADVP (85,7%), resto heterosexual. Adquisición

comunitaria 88%. Edad 35 (17-61). Los gérmenes aislados fueron *S. pneumoniae* (30%), *Salmonella* sp (19%), *E. Coli* (9,5%), *Klebsiella* (7,1%), *Candida* spp (4,7%), *S. aureus* (2,3%), polimicrobiana (4,7%) y miscelánea (*Proteus* spp., *Listeria* spp. y *Staphylococcus* spp.). Origen: respiratorio en 18 casos, digestivo en 12, vascular en 6, y otros focos: endocarditis 2, meníngeo 1, urinario 1 y desconocido en 3. La media de CD4 fue 277 (4-676). Realizaban TARGA 6 de los 35 pacientes, siendo 24 de ellos SIDA.

Conclusiones: 1) Los cambios en los hábitos de consumo de tóxicos conllevan una disminución de las endocarditis y microorganismos relacionados (*S. aureus*). 2) En ambos períodos nos encontramos con pacientes inmunodeprimidos, con similares prácticas de riesgo y estado avanzado de inmunosupresión. 3) El importante aislamiento de *S. pneumoniae* nos hace considerar la relevancia de la vacuna neumocócica.

261

IMPACTO DEL RECUENTO DE CD4 EN EL MOMENTO DE LA EXPOSICIÓN A TBMR SOBRE EL RIESGO DE DESARROLLAR TBMR EN PACIENTES VIH+

J. Cobo, L. Moreno, A. Guerrero, V. Abaira, A. Muriel, E. Navas, A. Asensio, E. G-Mampaso y S. Moreno
Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: Estudiar la evolución a largo plazo de un brote de TBMR y el impacto del recuento de los linfocitos CD4 en el momento de la exposición (CD4-exp) sobre el riesgo de desarrollar posteriormente TBMR.

Métodos: Estudio retrospectivo de la cohorte de los pacientes expuestos a un brote nosocomial de TBMR en 1994. Los pacientes fueron seguidos hasta el desarrollo de TBMR, el fallecimiento o la fecha de cierre de datos (30 de septiembre de 2000).

Resultados: En total, 212 de 266 (79,7%) pacientes han fallecido, y veinte (7,5%) pacientes desarrollaron TBMR durante el seguimiento. Dieciséis (80%) de los casos ocurrieron durante los 10 primeros meses, y se encontró una correlación entre los CD4-exp y el período de incubación ($r = 0,61$; $p < 0,01$; Spearman). Tener CD4-exp inferiores a 100/uL se asoció al desarrollo de TBMR mediante análisis por Kaplan-Meier ($p = 0,035$; log rank test). En el análisis multivariante (regresión de Cox) la exposición al caso índice (RR = 3,04; IC95%: 1,25-7,39) y presentar CD4-exp inferiores a 100/uL (RR = 3,06; IC95%: 0,99-9,94) incrementaron el riesgo de desarrollar TBMR, mientras que el haber padecido infección o enfermedad tuberculosa previa se mostró como factor protector (RR = 0,29; IC95%: 0,08-0,98).

Conclusiones: La inmunodepresión profunda incrementa el riesgo de desarrollo de TBMR tras la exposición en el contexto de un brote nosocomial. Dado que el seguimiento ha sido muy prolongado y la mayor parte de los pacientes han fallecido sugerimos, como explicación probable, un mayor riesgo de infección tuberculosa entre los más profundamente inmunodeprimidos.

262

TRATAMIENTO DIRECTAMENTE OBSERVADO EN LA COINFECCIÓN ENFERMEDAD TUBERCULOSA/ INFECCIÓN VIH EN INCUMPLIDORES: EXPERIENCIA DE UNA CASA DE ACOGIDA

A. Vergara, J.A. Girón, A. Bascuñana, A. Serrano, D. Selma, R. Valiente, E. Cruz, J. Vallejo y C. Bello
Hospital Universitario Puerto Real. Unidad Enfermedades Infecciosas. Puerto Real, Cádiz.

Objetivo: Analizar los resultados del tratamiento directamente observado (TDO) en pacientes afectos de tuberculosis (TBC) con infección VIH, ingresados en la Casa de Acogida de GERASA (Chiclana, Cádiz), donde se acoge a pacientes

con infección avanzada por el VIH en situación de indigencia socio-familiar.

Material y métodos: Se realiza un estudio clínico, retrospectivo, de seguimiento de una cohorte de todos los pacientes ingresados en la Casa GERASA y con diagnóstico de enfermedad tuberculosa en el contexto de una infección por VIH sin control clínico previo, durante el período entre septiembre 1997 a enero 2001 (40 meses). El seguimiento realizado (clínico, analítico y microbiológico) fue de una año en cada caso. La cumplimentación de cualquiera de las pautas se aseguraba mediante TDO.

Resultados: El número de pacientes con enfermedad TBC y coinfectados por el VIH en estos cuarenta meses fue de 19 casos. La edad media fue de 35 años (29-39 años). El sexo predominante fue varón (18:1). La práctica de riesgo para adquirir la infección VIH fue ADVP en 18 casos y la vía heterosexual en un caso. En todos los casos se consiguieron criterios de curación de la TBC, aún empleando diversas pautas de tratamiento tuberculostático en función de diversos factores: gravedad de la enfermedad TBC, inicio de tratamiento en el hospital, tolerancia, interacciones medicamentosas. En ningún caso hubo que interrumpir el tratamiento por reacciones adversas significativas (ej. hepatopatía severa). Todos los pacientes realizaban TARGA, de manera que la evolución de las cifras medias de linfocitos CD4 al inicio y final del tratamiento tuberculostático fue de 133/mm³ y 263/mm³ respectivamente, obteniéndose carga viral del VIH indetectable en 13 casos, con una reducción media de la carga viral al inicio y final del tratamiento tuberculostático de 4,69 log a 1,2 log.

Conclusiones: 1) En pacientes incumplidores (toxicómanos e indigentes) el TDO de la enfermedad tuberculosa y de la infección por VIH es muy eficaz para asegurar la cumplimentación de los mismos, siendo éste un factor decisivo en la curación de la TBC y en el control de la infección VIH. 2) Las Casas de Acogida son muy eficaces y necesarias para este tipo de pacientes desde el punto de vista social y sanitario.

263

TRATAMIENTO DE LA TB EN ENFERMOS VIH: SEGURIDAD Y EFICACIA ANTIRRETROVIRAL DEL USO CONCOMITANTE DE NEVIRAPINA (NVP) Y RIFAMPICINA (RF)

J. Sanz¹, J. Oliva², J. Pérez Molina³, R. Rubio⁴, J. Sanz-Moreno⁵, A. Mariño⁶ y S. Moreno²

¹H. La Princesa, ²H. Ramón y Cajal, ³H. Gregorio Marañón, ⁴H. 12 de Octubre, ⁵H. Príncipe de Asturias y ⁶H. A. Marciade.

Introducción: Existe controversia en relación a la coadministración de no análogos de los nucleósidos y RF en enfermos VIH con TB. No existen datos clínicos relacionados con la administración conjunta de RF y NVP.

Métodos: Estudio observacional, multicéntrico. Todos los enfermos VIH con TB que recibieron RF y NVP conjuntamente fueron incluidos. El principal objetivo fue observar la respuesta virológica tras finalizar el tratamiento tuberculostático. También se observó la evolución de la TB, la evolución inmunológica y la aparición de efectos adversos. Todos los pacientes recibieron H, RF y Z, junto con 2 análogos de los nucleósidos y NVP.

Resultados: Se evaluaron 27 pacientes. *C. basales:* edad 35 (25-51), ADVP 65%, mediana de CD4 104/mm³ (11-975), mediana de CV 106.000 copias/ml (< 50-750.000). En 6 casos el tratamiento se interrumpió: en 2 se perdió el seguimiento, y en 4 fue necesario un cambio de terapia antirretroviral por toxicidad. *Eficacia:* Tras la finalización del tratamiento tuberculostático, la mediana de CV era < 400 copias/mL, con una mediana de descenso de 105.850 copias/mL respecto a la cifra basal; 15 (56% en el análisis por intención de tratamiento, 71% en el de tratamiento) pacientes tenían una CV < 400 copias/mL. La mediana de CD4 fue de 258 células/mm³ (64-807), con una mediana de incremento de 96 células/mm³ respecto a la cifra basal. Un paciente desarrolló una nueva

enfermedad definitiva de SIDA (PCP), y seis desarrollaron una enfermedad categoría B. La TB se curó en todos los casos, sin que existiesen recidivas durante el período de seguimiento. *Toxicidad:* la NVP se suspendió en 4 (15%) pacientes: vómitos en 2, toxicidad hepática en uno, y rash en otro.

Conclusión: NVP y RF se pueden administrar conjuntamente en enfermos VIH positivos con TB, con buena respuesta inmunológica y virológica. La combinación no se asoció con la aparición de efectos adversos importantes o inesperados.

264

FRECUENCIA DE RECIDIVAS DE LEISHMANIASIS VISCERAL EN PACIENTES INFECTADOS POR VIH y TARGA

J.A. Mira, J.E. Corzo, A. Rivero, J.A. Pineda, E. León, J. de la Torre, J. Macías, R. Jurado y F. Lozano
Hospital Universitario de Valme. Sevilla.

Introducción: Desde la introducción de la terapia antirretrovírica de gran actividad ha disminuido la incidencia de la leishmaniasis visceral (LV) en pacientes infectados por VIH. Sin embargo, hay algunos estudios que indican que la TARGA no previene las recidivas en los pacientes que han presentado una LV.

Objetivo: Analizar la frecuencia de recidivas de leishmaniasis visceral en pacientes infectados por VIH que reciben TARGA.

Material y métodos: Hemos seguido prospectivamente a 11 pacientes infectados por VIH, que desarrollaron una LV sintomática y, posteriormente, recibieron TARGA. De ellos, tres recibieron quimioprofilaxis secundaria y no han sido incluidos en este análisis. El diagnóstico de LV se estableció cuando se detectaron, en los aspirados de médula ósea, amastigotes de *Leishmania* en extensiones teñidas con Giemsa y/o promastigotes en cultivo junto con síntomas propios de Kala-azar.

Resultados: La mediana de CD4 en el momento del diagnóstico de la LV fue de 34 cel/mm³ (rango 10-277 cel/mm³). El tiempo de seguimiento desde la introducción de la TARGA fue de 28 meses (rango 2-53 meses). La mediana de CD4 al inicio de la TARGA fue de 95 células/mm³ (rango 8-347 cel/mm³) y de 193 cel/mm³ (24-616 cel/mm³) al final del seguimiento. En un paciente tras la TARGA se consiguió carga viral indetectable de forma mantenida y en dos pacientes una reducción de 1 log a lo largo de todo el seguimiento. En cinco enfermos el recuento de células CD4 aumentó al menos 50 células sobre el nivel basal. 2 (25%) pacientes presentaron una recidiva de la LV. Uno de los pacientes que recidivó presentaba un fracaso virológico y el otro una mala adherencia al tratamiento.

Conclusión: La terapia antirretrovírica de gran actividad parece prevenir la recidiva de la LV en pacientes infectados por VIH.

265

LINFOMAS EN LA ERA TARGA EN SUJETOS VIH+

J. González-Castillo, B. Díaz, M.J. Núñez, J. Nuevo, M.J. Téllez y V. Roca
Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Objetivo: Desde la introducción de la terapia altamente eficaz en el tratamiento de la infección por VIH se han publicado diversos estudios para intentar determinar si la incidencia de estos tumores ha disminuido con la nueva terapéutica o si la supervivencia de estos pacientes se ha incrementado. Estos estudios muestran datos contradictorios.

Métodos: Realizamos un estudio retrospectivo a partir de las historias clínicas de los sujetos VIH+ diagnosticados de linfoma en un hospital terciario de Madrid comparando los

períodos del 1991-1995 y del 1996 al 2000. Se analizan criterios epidemiológicos, inmunológicos y de supervivencia.

Resultados: Durante el período de 1991 al 1995 se diagnosticaron 42 linfomas no Hodgking, mientras que de 1996 al 2000 fueron 28 ($p < 0,011$). El 60% de los sujetos eran varones. Durante el primer período se obtuvieron los siguientes datos: el 47% de los sujetos eran ADVP; la edad media fue de 36 años; el recuento de linfocitos CD4+ en el momento del diagnóstico del linfoma de 197 ± 164 cells/mm³. Durante el segundo período estudiado: el 61% de los pacientes eran ADVP; la edad media fue de 38 años; el recuento de linfocitos CD4 al diagnóstico fue de 195 ± 168 cells/mm³. De entre éstos, 16 estaban en tratamiento con HAART (57%), 4 no HAART (14%) y 8 no recibían tratamiento antirretroviral (29%). En el primer período observamos una mortalidad del 69,04% y en el segundo 57,14% ($p = 0,30$).

Conclusiones: El tratamiento antirretroviral de alta eficacia ha provocado una mejoría inmunológica en los pacientes VIH+, lo cual ha provocado una disminución de la morbi-mortalidad. En nuestra experiencia esto ha provocado una disminución en el número de casos de linfomas, pero no una disminución significativa de la mortalidad por esta causa en los pacientes diagnosticados. El estado inmunológico, cuantificado en número de linfocitos CD4+, es similar en los pacientes diagnosticados de linfoma en ambos períodos de tiempo.

Sesión 13

Infección de la comunidad

266

VALORACIÓN DE DOS ANTÍGENOS DE ALTO PESO MOLECULAR EN LA RESPUESTA BACTERICIDA FRENTE A CEPAS DE *N. MENINGITIDIS*

S. Sánchez, G. Troncoso, M.T. Criado y C.M. Ferreirós
Dep. Microbiología. F. Farmacia. Universidad de Santiago.

Objetivo: Analizar dos antígenos de alto peso molecular como responsables de la generación de anticuerpos son capacidad bactericida frente a cepas de *N. meningitidis* del serogrupo B para su valoración como candidatos a una vacuna proteica efectiva.

Material y métodos: La detección de los anticuerpos contra dos antígenos de alto peso molecular (HMWPs), presentes en 8 sueros humanos (tanto de pacientes convalecientes de meningitis meningocócica como de voluntarios sanos) y en 22 sueros de ratón, fue realizada mediante Western-blotting. Las HMWPs fueron purificadas por elución desde geles de poliacrilamida del 7,5%. El suero de ratón anti-HMWPs se obtuvo mediante la inmunización de ratones con 3 dosis consistentes en 10 µg de proteína purificada. La capacidad bactericida del suero anti-HMWPs contra la cepa test B16B6 fue evaluada en ensayos empleando como fuente de complemento un suero humano adsorbido con la propia cepa.

Resultados: En el estudio de los perfiles antigénicos se observó una relación estadísticamente significativa entre la capacidad bactericida de los sueros y la presencia de anticuerpos frente a dos antígenos de alto peso molecular (HMWPs). La existencia de esta correlación concuerda con la elevada tasa de mortalidad que presenta el suero de ratón anti-HMWPs (77% ± 17%). Además, la capacidad bactericida de los diferentes sueros humanos es independiente de la presencia o del grado de intensidad de la respuesta frente a otros antígenos de la membrana externa (PorA o PorB).

Conclusiones: Los epitopos responsables de la respuesta bactericida de los diferentes sueros ensayados contra la cepa test B16B6 parecen corresponder con dos proteínas de alto

peso molecular (155 kDa y 132 kDa) que generan respuesta de anticuerpos *in vivo*. La presencia de estos anticuerpos en sueros de voluntarios sanos indica que se trata de antígenos implicados en el desarrollo de la inmunidad natural.

267

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD BACTERICIDA DE SUEROS HUMANOS FRENTE A TRES CEPAS INVASIVAS DE *N. MENINGITIDIS*

S. Sánchez, G. Troncoso, M.T. Criado y C.M. Ferreirós
Dep. Microbiología. F. Farmacia. Universidad de Santiago.

Objetivo: Evaluar la actividad bactericida de sueros obtenidos de voluntarios sanos y de pacientes convalecientes de meningitis frente a tres cepas de *Neisseria meningitidis* y relacionar las diferencias en su capacidad bactericida con la existencia de antígenos de membrana externa con reactividad cruzada.

Material y métodos: Ocho sueros humanos, 4 de voluntarios sanos y 4 de pacientes convalecientes de meningitis, se probaron en ensayos de actividad bactericida frente a las cepas tipo *N. meningitidis* M982 (B9:P1.2) y B16B6 (B2a:P1.2) y frente a la cepa *N. meningitidis* Nm30 (C2b:P1.2). Se utilizó como fuente de complemento suero humano adsorbido con cada una de las cepas. La detección de los anticuerpos dirigidos contra las proteínas de membrana externa fue realizada por Western blotting.

Resultados: Todos los sueros fueron bactericidas contra las cepas Nm30 y M982 con tasas de muerte cercanas al 100% para la primera y algo menores para la segunda. Con la cepa B16B6, tres de los ocho sueros presentaron actividad nula. La presencia de dos antígenos de alto peso molecular en la cepa B16B6 se relaciona estadísticamente con la capacidad bactericida.

Conclusiones: La alta actividad bactericida contra la cepa Nm30 (serogrupo C) puede deberse a anticuerpos frente al polisacárido capsular, mientras que, en las cepas M982 y B16B6 (serogrupo B), la menor tasa de mortalidad quizás se debe a que la protección es ejercida por anticuerpos dirigidos contra OMPs y LOS, menos bactericidas. La capacidad bactericida de los sueros de voluntarios sanos sugiere que el estado de portador es un mecanismo eficaz para la adquisición de inmunidad frente a *N. meningitidis*.

268

ESTUDIO DE LA ADHERENCIA BACTERIANA DE *E. COLI* SENSIBLE O RESISTENTE A QUINOLONAS EN PACIENTES CIRRÓTICOS

I. Gascón, J. Plazas, J. Such, S. Pascual, L. Navarro, E. Leutsch, P. Mas, J. Sánchez, L. Gimeno, A. Sánchez y M. Pérez-Mateo
Hospital General Universitario, Alicante.

Introducción: El uso prolongado de norfloxacino (NOR) en pacientes con cirrosis hepática (CH) da lugar a la aparición a corto plazo de cepas de *E. coli* resistentes a quinolonas (RQ).

Objetivo: Estudiar *in vitro* la CAB a células epiteliales como factor de virulencia de cepas de *E. coli* procedentes de pacientes con CH en relación con el factor de RQ y de la presencia de NOR en el medio.

Materiales y métodos: Obtuvimos 59 cepas de *E. coli* a partir de escobillonados rectales de 53 pacientes con CH y se determinó su sensibilidad a NOR mediante tiras de E-test. Las cepas aisladas se pusieron en contacto con células epiteliales de la boca de los pacientes, con y sin concentraciones subinhibidoras de NOR en el medio. La CAB se midió mediante fluorescencia indirecta contabilizando el número de células que presentaron bacterias adheridas (% AD), así como la media de bacterias adheridas por célula (MBAC). El