Sesión 6: Infecciones víricas (no VIH) (1)

082

CAMBIOS EN LOS GENOTIPOS DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B

A. Morilla, D. González, E. Gómez, L.G. Diéguez¹, L. Alba, M. de Oña y S. Melón
Servicios de Microbiología (Virología) y Digestivo¹

Objetivos: Analizar la distribución de los genotipos del virus de la hepatitis B (VHB) en los pacientes con hepatitis aguda (infección reciente) y crónica (infección antigua), así como las características epidemiológicas que pudieran estar relacionados con ellos.

Métodos: Se recogieron y analizaron muestras de 101 pacientes, 20 con hepatitis aguda por el VHB y 81 con hepatitis crónica (58% HBeAg + y 42% HBeAg -). Se recogieron las características epidemiológicas de todos los pacientes comprobando que los pacientes con hepatitis aguda eran españoles, mientras que 9 de los pacientes con hepatitis crónica eran inmigrantes (8 asiáticos y 1 africano). El estudio de genotipado se llevó a cabo con el sistema "TRUGENE HBV Genotyping Kit", y fue analizado con el software "Open Gene ADN Sequencing System" (Visible Genetics, Toronto).

Resultados: El genotipo más frecuente en ambos grupos fue el A (50% de los pacientes con hepatitis aguda y 47% de los pacientes con hepatitis crónica), sin embargo, el genotipo D fue significativamente más frecuente en hepatitis crónicas que en agudas (38% vs 10%; $p = 0,007$) y el genotipo F lo fue en agudas con respecto a las crónicas (40% vs 4%; $p = 0,0001$). Entre los pacientes inmigrantes con hepatitis crónica por el VHB se encontraron otros genotipos no habituales en nuestro entorno: 6 pacientes estaban infectados por el genotipo C, 2 pacientes por el genotipo B y 1 paciente por el E.

Por otra parte, la adquisición por vía sexual fue más frecuente en el F que en el D (45% vs 9%; $p = 0,02$), mientras que no hubo diferencias con respecto al genotipo A (25%), ni entre éste y el genotipo D.

Conclusiones: En nuestro medio, los genotipos más frecuentes en la infección crónica por VHB son el A y el D, mientras que en la forma aguda predominan los genotipos A y F. Estas diferencias en la distribución de los genotipos entre hepatitis agudas y crónicas pueden ser debidas a distintas tasas de cronificación en los diferentes genotipos, o lo que es más probable, a cambios temporales en la predominancia de los mismos debido a modificaciones en las vías de transmisión y a la penetración de genotipos no habituales como consecuencia de la inmigración.

083

PREVALENCIA DE ANTI-VIRUS HEPATITIS A EN EL AREA SANITARIA DE FERROL. EVOLUCION EN LOS ULTIMOS DIEZ AÑOS

P. Ordóñez, T. Vilariño y A. Agulla

Servicio de Microbiología. Hospital A. Marcide. Área Sanitaria de Ferrol.

Objetivos: Determinar la prevalencia de anti-Virus Hepatitis A (VHA) en el área sanitaria de Ferrol, y estudiar su evolución, comparando los resultados obtenidos en este estudio con otro similar realizado en 1996.

Material y métodos: Los sueros ($n = 736$) se recogieron al azar de pacientes de 1 a 89 años que acudieron al hospital durante los meses de noviembre y diciembre de 2006, distribuidos en nueve grupos de edad. El anti-HAV se determinó en suero mediante Architect HAV Ab-IgG, Abbott Diagnostics. Un estudio en el que también se estudiaron 736 muestras fue realizado diez años antes en nuestro centro.

Resultados: La prevalencia global para anti-HAV fue de 47,96%. Se observó un incremento relacionado con la edad: 1-9 años: 4,5%; 10-19 años: 9,7%; 20-29 años: 14,9%; 30-39 años: 25,8%; 40-49 años: 70,9%; 50-59 años: 93,3%, 60-69 años: 95,3%, 70-79 años: 100%; más de 80 años: 96,7%. En el año 1996 las cifras obtenidas para los mismos grupos de edad fueron: 1,4%; 9,9%; 43,2%; 81,1%; 92,7%; 100%; 100%; 97,7%; 100%. No se encontraron diferencias relacionadas con el sexo.

Conclusiones: La prevalencia de anti-HAV fue más alta a partir de los 40 años. En los últimos diez años se ha producido una disminución en la prevalencia de anti-HAV en personas menores de 40 años, desplazando hacia la derecha la curva de prevalencia. Los pacientes menores de 30 años son susceptibles de infección por VHA y podrían beneficiarse de un programa de vacunación. El estudio de VHA podría excluirse del diagnóstico diferencial de hepatitis agudas en pacientes mayores de 60 años.

084

ELEVADA PREVALENCIA DE MARCADORES DE INFECCIÓN POR VHB Y VHC EN PACIENTES SUBSAHARIANOS REMITIDOS A LA UNIDAD DE MEDICINA TROPICAL DEL HOSPITAL DE PONIENTE

J. Salas, J.M. Fernández, M.T. Cabezas, I. Cabeza, J. Vázquez, M.A. Molina, A. Lozano, M.C. Rogado, M.L. Sánchez y A. Vicente

Unidad de Medicina Tropical. Hospital de Poniente. El Ejido. Almería.

Objetivos: Estudiar la prevalencia de marcadores de VHB y VHC en pacientes de origen subsahariano remitidos a la Unidad de Medicina Tropical (UMT) del Hospital de Poniente.

Material y métodos: De los 95 pacientes subsaharianos remitidos a la UMT hasta Enero 2006, en 91 se dispone de marcadores de infección por VHB y VHC. Proceden en su

mayoría de países del oeste de África, principalmente Mali (25%), Senegal (24%), Guinea-Bissau (19%) y Mauritania (12%). El 88% son varones, con una edad media de 29 años. El estudio de la infección de VHB se realizó mediante la detección de AgHBs, Ac antiHBc y Ac antiHBs. En pacientes con Ac antiHBc positivo se solicitó IgM-HBc para descartar infección aguda. En los pacientes con AgHBs +, se determinaron el AgHBe y Ac antiHBe, además de ADN de VHB. Para el estudio del VHC se empleó la detección de Ac anti VHC. En los casos de positividad, se determinó el ARN de VHC.

Resultados: El 82,4% (n = 75) de los pacientes tiene marcadores positivos a VHB. 24 (26,4%) son portadores crónicos (AgHBs +). Entre los pacientes con AgHBs -, 27 (29,6%) tenían AcHBs + y AcHBc +. 24 pacientes (26,4%) tenían como único marcador el Ac antiHBc. No existen diferencias significativas en la distribución por países. En 14 de los portadores crónicos de VHB se dispone de datos de PCR, siendo positiva en 6 (43%) y negativa en 8 (57%). 5 pacientes (5,5%) presentaron positividad para el Ac antiVHC (1 coinfección con VHB, 2 pacientes con marcadores negativos para VHB y 2 con marcadores de infección pasada).

Conclusión: Existe una muy elevada prevalencia (82,4%) de marcadores positivos de VHB entre los pacientes de origen subsaharianos remitidos a nuestra Unidad, y entre ellos, un 26% son portadores crónicos. Dado que el momento de infección por VHB en esta población suele ser en la primera infancia, el riesgo de desarrollo de hepatopatía crónica y hepatocarcinoma es muy elevado, lo que implica la necesidad de un seguimiento estrecho y tratamiento en los casos indicados. Ante estas cifras, se refuerza la idea de incluir la solicitud de marcadores de VHB y VHC en todos los pacientes procedentes del África subsahariana

085

EMERGENCIA DE ARBOVIRUS COMO CAUSA DE MENINGITIS EN PACIENTES ADULTOS INMUNOCOMPETENTES EN NUESTRO PAÍS

P. Fernández-Viladrich¹, D. Kaptoul¹, C. Garcia-Vidal¹, C. Domingo², J. Niubó³, S. Martínez-Yélamos⁴, F. de Ory² y A. Tenorio²

Servicios de Enfermedades Infecciosas¹, Microbiología³ y Neurología⁴, IDIBELL-Hospital Universitari de Bellvitge. Universitat de Barcelona. Centro Nacional de Microbiología², Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, Spain.

Objetivo: Describir la emergencia de arbovirus como causa de meningitis en adultos inmunocompetentes de nuestra comunidad.

Material y métodos: Estudio prospectivo observacional de adultos inmunocompetentes hospitalizados con la sospecha diagnóstica de meningitis/meningoencefalitis víricas dentro de la red EVITAR (Mayo 2003-Noviembre de 2005). Se excluyeron los pacientes con encefalitis herpética. Se han recogido características epidemiológicas y clínicas de los pacientes. Se han analizado los LCR de fase aguda mediante RT-PCR nested múltiple para herpes virus y enterovirus y genérica para arbovirus. Se han estudiado los sueros obtenidos en fase aguda y de convalecencia para detección de anticuerpos frente a los virus West Nile y Toscana mediante técnicas de ELISA y neutralización.

Resultados: Se estudiaron 54 pacientes hospitalizados con la presunción diagnóstica de meningitis/meningoencefalitis víricas de los cuales 31 (57%) fueron mujeres. La edad media fue de 38 (18-79) años. Entre los meses de abril y septiembre se diagnosticaron 32 casos aunque hubo representación en todo el año. Catorce (26%) pacientes tenían historia de viajes recientes (< 1mes) dentro del territorio nacional, 13 (24%) realizaban habitualmente actividades al aire libre, 12 (22%) habían tenido contacto reciente con viriasis y sólo 7 (13%) referían un antecedente claro de picadura de insecto. Destaca que 9 pacientes (16%) tenían antecedentes de migraña. Los

síntomas más frecuentes fueron la fiebre (94%) y la cefalea (90,7%). Se realizaron 43 RT-PCR para los virus herpes y enterovirus, sólo 6 fueron positivos (2 enterovirus, 2 VVZ y 2 HSV). Los 37 restantes se analizaron con la RT-PCR para arbovirus siendo todas las muestras negativas. Se obtuvieron muestras de suero de 38 pacientes, 31 sueros en fase aguda y 22 en fase de convalecencia. Se hallaron 7 pacientes con Ig G positiva por el virus Toscana (infección pasada) y 1 con Ig M positiva (infección reciente), que es el primero descrito en Cataluña. Dos pacientes tenían Ig G positiva para virus West Nile, uno con Ig M negativa (infección pasada) y otro con Ig M positiva (infección reciente, constituyendo el primer caso descrito en nuestro país).

Conclusiones: 1. Los arbovirus son una causa real aunque poco frecuente de meningitis vírica en nuestro medio. 2. Los virus herpes y enterovirus fueron la causa de tan sólo el 14% de los casos. 3.- La mayoría de meningitis presuntamente víricas del adulto quedan sin diagnóstico etiológico.

086

LOS VIRUS TOSCANA, WEST NILE Y DE LA LINFOCORIOMENINGITIS COMO CAUSANTES DE MENINGITIS EN ESPAÑA

F. de Ory, M.P. Sánchez-Seco, C.G. Fedele, A. Tenorio, T. Minguito, M. Sanz y M. I. Gegúndez*

*Servicio de Microbiología Diagnóstica, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, y *Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Alcalá, Madrid*

Introducción: La mayoría de casos de meningitis aséptica (MA) están causados por enterovirus (EV), virus del grupo herpes, y virus de la parotiditis (VP). Sin embargo, un porcentaje importante de casos de MA permanecen sin diagnóstico etiológico. El objetivo del presente estudio es conocer la incidencia de la infección por otros virus productores de MA (virus Toscana [VTOS], virus West Nile [VWN] y virus de la linfocoriomeningitis [VLCM]) en los casos de MA negativos a los agentes usuales.

Material y métodos: Se han estudiado los casos de MA recibidos en el Centro Nacional de Microbiología entre 2000 y 2005, negativos a EV, virus del grupo herpes y VP, de los que se dispuso de una muestra de suero (total: 341 casos, 382 sueros). Se han realizado determinaciones de IgG e IgM frente a VTOS y VWN por ELISA (Diesse, Italia, y Focus, EEUU, respectivamente), y por inmunofluorescencia indirecta para VLCM, utilizando células Vero E6 infectadas al 70% con la cepa Armstrong.

Resultados: Se ha obtenido resultado indicativo de infección reciente por VTOS en 20 casos (5,9% de los estudiados), 19 con presencia de IgG e IgM y uno con presencia única de IgM. La prevalencia de la infección ha mostrado variaciones anuales (10%, 5,2%, 9,6%, 12,5%, 1,2% y 1,6%, desde 2000 hasta 2005). La infección se ha producido desde mayo a octubre, coincidiendo con la actividad del vector. Los casos se han diagnosticado en Madrid (14 casos), costa del Levante (4 casos) y Andalucía (2 casos). Otros 51 casos mostraron evidencia de infección pasada por VTOS (15%). En relación con VLCM se han obtenido 5 casos positivos (1,5%), por presencia de IgG e IgM (4 casos), o por detección de seroconversión de IgG (1 caso). Todos los casos se produjeron durante los meses de verano, presentando una extensa localización geográfica (Málaga, Badajoz, Madrid, Zamora y Huelva). Otros 14 casos mostraron evidencia de infección pasada por VLCM (4,1%). Por último, en relación con VWN, no se ha confirmado presencia de infección reciente en ningún caso, evidenciándose presencia de IgG en 12 pacientes (3,5%), indicando contacto previo con VWN u otro flavivirus relacionado antigénicamente.

Discusión: Se confirma que el VTOS es un importante agente productor de MA en España, y la presencia de infecciones por VLCM, requiriéndose la confirmación de la reac-

tividad detectada frente a VWN. La aplicación complementaria a la serología de métodos moleculares sin duda va a mejorar el conocimiento de estas infecciones.

087

ENCEFALITIS HERPÉTICA EN EL ADULTO: EXPERIENCIA DE 15 AÑOS

A. Riera¹, L. Gubieras², S. Martínez Yélamos², J. Niubó³, C. Cabellos⁴ y P. Fernández-Viladrich⁴

¹Servicio de Medicina Interna, ²Servicio de Neurología, ³Servicio de Microbiología, ⁴Servicio de Enfermedades Infecciosas. IDIBELL. Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat (Barcelona)

Objetivo: Conocer las características y evolución de los pacientes ingresados por Encefalitis Herpética (EH) en el Hospital Universitari de Bellvitge (HUB)

Material y métodos: Estudio descriptivo de los pacientes diagnosticados de EH en el HUB entre 1992-2006. Se recogieron datos demográficos, clínicos, diagnósticos y terapéuticos. Se evaluaron las secuelas neurológicas al alta y a los 6 meses.

Resultados: Se diagnosticaron 35 pacientes (63% varones); edad media 54 años (18-89). El 14,3% presentaba enfermedades debilitantes. La duración media de la clínica fue de 5 d, consistente en cefalea (68,6%), desorientación (57%), alteración conductual (54%), náuseas/vómitos (43%) y crisis comiciales (40%). A la exploración física, todos presentaban fiebre/febrícula (media 38,7°C), 54,3% alteración del nivel de conciencia, 14,3% meningismo, 51,4% focalidad neurológica y 8,6% afectación de pares craneales. La media de leucocitos, proteínas y glucosa en el LCR fue de 97/mcL, 0,83 g/L y 3,7 mmol/L; se realizó PCR VHS en 26 pacientes, siendo positiva en 24. La TC craneal (realizada al ingreso a todos los pacientes) fue compatible con EH en el 45,7%, el EEG (en 33 pacientes tras una media de 2 d) en el 84% y la RM (en 27 pacientes tras una media de 6,7 d) en el 100%. Todos presentaron afectación del lóbulo temporal (14% bilateral). Recibieron aciclovir todos los pacientes (duración media 15 d), transcurridas una media de 13 h desde el ingreso. El 66% recibió además anticongulantes y el 31,4% tratamiento antiedema. El tiempo medio entre inicio del tratamiento y primer día de apirexia fue de 8,7 d. Ingresaron en UCI el 25,7%. La estancia media fue de 29 d, con una mortalidad del 8,6%. Al alta, un 31% presentaba incapacidad moderada-grave y las secuelas neurológicas eran afasia (41%), alteraciones mnésicas (28%), alteración conductual (16%) y epilepsia (12,5%). A los 6 meses, el 22% continuaba con incapacidad moderada-grave y las secuelas eran afasia (31%), alteración conductual (16%), alteraciones mnésicas (16%) y epilepsia (3%).

Conclusiones: La EH supone un elevado requerimiento de UCI, una hospitalización prolongada, una mortalidad significativa y una importante causa de discapacidad. La TC craneal posee una baja sensibilidad al ingreso, por lo que su normalidad no exime solicitar una PCR VHS en LCR e iniciar inmediatamente el tratamiento, si la clínica es compatible.

088

UTILIDAD DE LA PCR REAL TIME PARA EL DIAGNÓSTICO DE MENINGITIS AGUDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS

C. Cilloniz¹, D. Navarro¹, M.D. Martínez-Aparicio¹, M. Jiménez¹, T. García-Lozano¹, J.C. Latorre¹, R. Mancheño¹, J. Brines², J. García de Lomas¹ y C. Gimeno¹

¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Pediatría. Hospital Clínico Universitario y Facultad de Medicina. Valencia.

Introducción: La relevancia terapéutica y epidemiológica del diagnóstico etiológico de las meningitis agudas es indudable; la eficacia diagnóstica de los métodos clásicos no es

óptima, por lo que la implementación de técnicas moleculares en el diagnóstico de estos procesos es una propósito razonable. Sin embargo, no existe demasiada experiencia en este campo.

Objetivo: Conocer la utilidad de la técnica Real Time PCR (Izasa) de detección de enterovirus, *N. meningitidis* y *S. pneumoniae* para el diagnóstico precoz de la meningitis aguda en la edad pediátrica. **Pacientes y métodos:** Se analizaron 71 muestras de LCR procedentes de pacientes con sospecha de meningitis (Junio a Diciembre de 2006). Se incluyeron 45 niños (63%) y 26 niñas (37%), con edad comprendida entre 55 días y 13 años; el diagnóstico más frecuente fue síndrome febril (60,82%), sospecha de meningitis (23,71%) y convulsiones (6,19%). Todas las muestras se cultivaron en agar chocolate y corazón-cerebro para estudio bacteriológico y en las líneas celulares MRC-5, Vero y RD *shell-vial* durante 21 días para estudio virológico. La identificación bacteriana se llevó a cabo mediante procedimientos convencionales y la identificación viral mediante observación del ECP e IFD (*enterovirus*, *echovirus*, *poliovirus*, *coxsackievirus*). A todos los cultivos víricos se les realizó la IFD al finalizar el período de incubación, aún en ausencia de ECP. El ARN viral y el ADN bacteriano fueron extraídos mediante QIAamp Viral RNA Mini Kit y QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN), respectivamente. Para los enterovirus, la transcripción inversa y la amplificación se realizaron en un solo paso (Qiagen One Step RT-PCR). Para *Neisseria meningitidis* y *Streptococcus pneumoniae* se utilizó el sistema multiplex Realcyclus MENE-01 (Ingenie molecular). La amplificación y detección se realizaron en el Smart Cycler II (Cepheid Inc.). A todos los pacientes se les extrajo además un hemocultivo que se procesó de la forma habitual (Bactec 9240® BD).

Resultados: Se amplificó ARN de enterovirus en 18 casos (25,3%); sólo en 2 (2,8%) de ellos se pudo aislar y tipificar el virus mediante cultivo celular (*Echovirus*). Se amplificó ADN de *N. meningitidis* en 2 casos (2,8%), en uno de éstos (1,4%) se aisló además en el hemocultivo. El ADN de *S. pneumoniae* fue amplificado en 2 casos (2,8%), en uno de ellos (1,4%) se aisló en el hemocultivo.

Conclusiones: La PCR Real Time mejora ostensiblemente la eficacia diagnóstica de los métodos convencionales, especialmente en el caso de las meningitis enterovirales (sólo 2 de los 22 casos detectados habrían sido diagnosticados mediante cultivo celular).

089

RT-PCR DEL SOBRENADANTE DEL CULTIVO EN CÉLULAS DE RABDOMIOSARCOMA PARA DETECTAR ENTEROVIRUS A PARTIR DE MUESTRAS DE LCR

M.A. Garre, M. Pérez-Ruiz, R. Yeste, J. Rodríguez-Granger, P. Mazuelas, T. Sabalet, G. Reina, J.M. Navarro-Mari y M. de la Rosa

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

Los enterovirus producen la mayoría de los casos de meningitis de etiología viral. El diagnóstico mediante cultivo viral ofrece un rendimiento variable dependiendo de la capacidad del serotipo infectante de replicarse en mayor o menor grado en líneas celulares. Por ello, actualmente el diagnóstico de meningitis por enterovirus se prefiere realizar mediante técnicas moleculares, principalmente RT-PCR. El objetivo de este trabajo fue comparar el rendimiento diagnóstico de la RT-PCR a partir de muestras de LCR frente a la RT-PCR de sobrenadante de cultivo en células de rhabdomiosarcoma (RD). Se eligió esta línea celular por ser una de las que mejor soporta la replicación de un mayor número de serotipos de enterovirus. Se procesaron en paralelo para cultivo viral y RT-PCR de enterovirus muestras de LCR recibidas entre julio y octubre de 2006 con sospecha de meningitis de etiología viral. El cultivo se realizó en células RD y hasta 4 líneas celulares, en función de la cantidad de muestra disponible. La otra alícuota de la muestra se procesó para ex-

tracción automática de ácidos nucleicos en MagnaPure Compact (Roche) y posterior RT-PCR en tiempo real (PCR-TR), utilizando cebadores dirigidos frente a la región 5' no codificante de genoma viral y SybrGreen como formato de detección. Igualmente, el sobrenadante del cultivo en RD de las muestras procesadas en la semana, se extrajo cada viernes para detección de enterovirus mediante la PCR-TR. Se analizaron 41 LCRs por ambas técnicas: 19 fueron positivos mediante PCR-TR de muestra directa y 17 muestras fueron positivas mediante RT-PCR del cultivo en RD. En 5 casos sólo se detectó enterovirus mediante PCR-TR de cultivo RD y 7 muestras fueron positivas sólo mediante PCR-TR de muestra directa.

Conclusiones: La detección de enterovirus mediante PCR de cultivo viral en RD no parece ofrecer ventajas con respecto a la detección de enterovirus mediante PCR de muestra directa, ya que el resultado del cultivo se retrasaría varios días y la sensibilidad global no es significativamente mayor. Habría que valorar si otras líneas celulares y/o otras técnicas de cultivo rápido como el shell-vial mejorarían los resultados obtenidos, y podrían competir en rendimiento diagnóstico con las técnicas moleculares a partir de muestra directa.

090

ESTUDIO DE LA ETIOLOGÍA DE CASOS ESPORÁDICOS DE GASTROENTERITIS AGUDA CON COPROCULTIVO NEGATIVO

N. Tormo¹, R. Montava² y J. Buesa^{1,2}.

¹Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario. Valencia. ²Dpto. de Microbiología y Ecología. Facultad de Medicina. Valencia.

Introducción: La gastroenteritis (GE) es la tercera causa de muerte por enfermedad infecciosa en el mundo, afectando principalmente a niños menores de 5 años, sobre todo en países en vías de desarrollo.

Objetivo: Ante un alto porcentaje de casos de GE en los que no se establece su etiología, nos propusimos profundizar en el estudio de la causa de gastroenteritis con coprocultivo negativo.

Material y métodos: A partir de 75 muestras de heces enviadas al Servicio de Microbiología del hospital entre febrero y marzo de 2005, se realizaron, tras el estudio bacteriológico de rutina del laboratorio, análisis parasitológicos y virológicos. En el estudio parasitológico, se procedió al examen microscópico de huevos de helmintos y quistes y trofozoitos de protozoos, así como a la investigación de coccidios y microsporidios mediante tinciones específicas. Con respecto al estudio virológico, se investigaron los agentes virales más comunes, es decir, rotavirus del grupo A, adenovirus 40 y 41, astrovirus y calicivirus, incluyéndose además otros menos frecuentes, como son picobirnavirus y virus Aichi. Para rotavirus y adenovirus se utilizó una prueba comercial de inmunocromatografía, y para el resto de virus, se empleó la RT-PCR. Los resultados positivos para rotavirus se confirmaron por PAGE, y posteriormente se analizaron los genotipos G y P de los mismos mediante RT-PCR semi-anidada.

Resultados: De las 75 muestras con coprocultivo negativo, 18 (24%) fueron positivas: 6 presentaron etiología parasitaria y 12 vírica. En el estudio parasitológico, se hallaron 3 microsporidios, 2 *Blastocystis hominis* y 1 *Giardia lamblia*. En el estudio virológico, hubo 11 casos de rotavirus (nueve por G1P[8], uno por G3P[8] y uno por G4P[8]) y 1 de calicivirus (Norovirus GGII.1-Hawaii).

Conclusiones: El agente patógeno más frecuente ha sido rotavirus del grupo A (14,6%), siendo interesante destacar que la mayoría de pacientes eran adultos. En general, el porcentaje de muestras positivas es bajo, lo que puede ser debido a causas etiológicas y técnicas, aunque es coincidente con otros trabajos, y permite hacer hincapié en el hecho de que muchos episodios de GE no presentan una causa etiológica definida.

091

ROTAVIRUS: ESTIMACIÓN DE SU CARGA DE ENFERMEDAD EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

J.M. Eiros¹, F.J. Luquero², L. Barrio¹, I. Gracia¹, A. Tenorio¹, M. Domínguez-Gil¹, J. Castrodeza² y R. Ortiz de Lejarazu¹

Servicios de ¹Microbiología y ²Medicina Preventiva. Hospital Clínico Universitario y Facultad de Medicina. Valladolid.

Objetivo: Estimar el peso atribuible a la infección por Rotavirus en la población de referencia de un hospital de tercer nivel de titularidad pública durante un quinquenio.

Métodos: Se ha desarrollado un estudio observacional retrospectivo tomando como población diana los niños < 5 años adscritos al Hospital Clínico Universitario de Valladolid en el período 2000-2004. Para valorar las hospitalizaciones por gastroenteritis aguda se han utilizado datos del Sistema Nacional de Vigilancia de Datos Hospitalarios [Conjunto Mínimo Básico de Datos (CMBD)]. El análisis estadístico se ha realizado con los programas informáticos MS Excel 2003® y SPSS 12.0®.

Resultados. Se han registrado 847 admisiones hospitalarias por gastroenteritis aguda, con una media anual de 169,4 (DE 41,25). El 71,4% (IC 95% 68,3-74,5%) presentó como diagnóstico al alta enfermedad infecciosa intestinal (códigos de CIE-9-MC: 001-009) y el 28,6% (IC95% 25,5-31,7%) gastroenteritis no infecciosa (código de CIE-9-MC: 558). Las gastroenteritis por Rotavirus constituyeron el 31,6% (IC95% 28,4-34,8), con un total de 268 casos en los 5 años de estudio; el 79% como diagnóstico principal y el 21% como secundario. La edad media de los pacientes con Rotavirus fue 13,4 meses (DE 9,12), el 58,6% (IC 95% 52,5-54,7%) varones. La estancia media que han originado los ingresos ha sido de 6,3 días (DE 2,47). Por grupos de edad existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$), observándose una mayor estancia media en los < 1 año (6,99 días (DE 2,38)); en el grupo de 3-5 años se situó en 3,89 días (DE 1,12). La tasa media de hospitalización semanal fue de 37 casos por 100.000 habitantes (DE 43,35), con máximos de hospitalización en los meses de invierno, donde se produjeron el 66% de las mismas. El número absoluto de hospitalizaciones atribuibles a Rotavirus en niños menores de cinco años fue de 212.

Conclusiones: La carga de enfermedad atribuible a Rotavirus en el presente trabajo es superior a la referida en otras Comunidades Autónomas siguiendo una metodología similar. La autorización en España de vacunas efectivas para reducir las infecciones por Rotavirus justifica análisis similares de cara a optimizar la toma de decisiones en el ámbito de la vacunación.

092

ESTUDIO RETROSPECTIVO DE 10 AÑOS DE LA INFECCION POR ROTAVIRUS EN LA PROVINCIA DE CASTELLON

C.J. Téllez^{1,2}, M.D. Tirado¹, J. Colomer², J.M. Beltrán³, S. Sabater¹ y F. Pardo¹

Sección de Microbiología. Hospital General de Castellón¹ Departamento de Pediatría. Universidad de Valencia² Servicio de Medicina Preventiva³. Hospital General de Castellón.

Objetivo: La gastroenteritis aguda es un problema de salud importante en la población infantil y rotavirus es la causa más común de diarrea grave en los niños. El objetivo de este estudio fue conocer el porcentaje de infección por rotavirus y sus características epidemiológicas en niños menores de 14 años en el departamento de salud 02 de la provincia de Castellón.

Material y métodos: Se realizó un estudio retrospectivo desde Enero de 1995 a Diciembre de 2004 de todos los coprocultivos (petición que incluye la detección de antígeno de

rotavirus) realizados en la Sección de Microbiología del Hospital General de Castellón. Se analizaron todas las muestras de heces de pacientes pediátricos y las variables estudiadas fueron: sexo, edad, procedencia, diagnóstico de rotavirus y fecha del diagnóstico. Se utilizó el test de la Chi cuadrado para la comparación entre proporciones, considerándose significativos valores de $p < 0,05$.

Resultados: Se estudiaron 19743 muestras de heces pertenecientes a 14.068 pacientes, detectándose rotavirus en un 11,9% de éstos (por sexo en 12,14% de los varones y 11,81% de las mujeres; $p = 0,5459$). La edad media de los pacientes con infección por rotavirus fue de 2,63 años. El mayor porcentaje de casos se encontró en el grupo de edad de 1-4 años (14,1%; $p < 0,001$), seguido de < 1 año (12,49%), 10-14 años (7,86%) y finalmente 5-9 años (5,63%). Dentro del grupo con mayor porcentaje de infección (1-4 años) se observó mayor incidencia en los pacientes de 1 año de edad con un 16,56% ($p < 0,001$). El porcentaje de casos del área ambulatoria fue de un 12,76% frente al 11,35% del hospital ($p < 0,05$). En cuanto a la estacionalidad, se observó una mayor incidencia en los meses de invierno (diciembre, enero y febrero), período en que se detectan un 49,79% del total de los casos ($p < 0,001$).

Conclusiones: Rotavirus es una causa importante de morbilidad en la edad pediátrica tanto en el hospital como en el ambulatorio, aunque se detecta con mayor frecuencia en muestras de pacientes no hospitalizados. Afecta significativamente más a los niños menores de 4 años, y principalmente a los de 1 año. La infección se presenta de forma predominante en los meses de invierno.

093

VIRUS PARAINFLUENZA EN NIÑOS CON NEUMONIA COMUNITARIA

M. Montes, D. Vicente, L. Piñero, J. Mendiola y G. Cilla
Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián.

Introducción: Los virus parainfluenza (VPI) están entre los principales virus responsables de infecciones respiratorias agudas (IRA) de vías bajas, junto a los virus respiratorio sincitial, influenza, metapneumovirus y otros. Bajo el nombre de VPI se agrupa a cuatro virus diferentes, denominados tipos 1 a 4. VPI-3 es incluido habitualmente en los estudios etiológicos efectuados en el contexto de IRA de vías bajas, y en menor medida los tipos 1 y 2, pero sólo excepcionalmente lo es el tipo 4. VPI-4, quizás por la dificultad de su cultivo, permanece relativamente desconocido y mal caracterizado clínica y epidemiológicamente. En este trabajo hemos investigado la presencia de VPI en niños con neumonía, con especial atención al VPI-4.

Métodos: El estudio se efectuó en un grupo de 339 niños de < 3 años que acudieron al Servicio de Urgencias de Pediatría entre Octubre de 2004 y Septiembre de 2006 con neumonía adquirida en la comunidad. A todos los niños se les extrajo un aspirado nasofaríngeo en el que se investigó mediante PCR, la presencia de varios virus respiratorios incluyendo los 4 tipos VPI.

Resultados. Se detectó VPI en 38 casos (11,2%) siendo en 22 el VPI-3. VPI-4 se detectó en 11 casos, más frecuentemente que los tipos 1 ($n = 1$) y 2 ($n = 3$) (un caso no tipado). De los 11 casos (6 varones), 10 eran mayores de 18 meses (prevalencia 4,8% en este grupo de edad). De hecho, el tipo 4 fue el VPI predominante entre los mayores de 18m (10/11 tipo 4 frente a 5/22 tipo 3, Yates $p = 0,008$). Seis casos aparecieron entre Mayo y Octubre, 6 hospitalizaron y 4 presentaban coinfecciones virales (VRS[1], bocavirus[1], metapneumovirus[1], VRS y bocavirus[1]).

Conclusión. Los VPI son virus frecuentes en la neumonía comunitaria del niño menor de 3 años, aunque son los VPI-3 y VPI-4 los más frecuentes. Estos resultados refuerzan otras recientes investigaciones que sitúan al VPI-4 entre los virus a tener presentes en IRA de vías bajas.

094

INCIDENCIA DE METAPNEUMOVIRUS HUMANO Y OTROS VIRUS RESPIRATORIOS EN NIÑOS MENORES DE 2 AÑOS HOSPITALIZADOS POR INFECCIÓN DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR

M. Camps¹, MA. Marcos¹, N. Rovira², S. Ricart², C. Muñoz-Almagro², M. Pons-Odena², J.J. Garcia² y T. Pumarola¹

¹Servicio de Microbiología, Hospital Clínic de Barcelona
²Departamento de Microbiología, Unidad de Enfermedades Infecciosas de Pediatría, Hospital Sant Joan de Déu.

Las infecciones del tracto respiratorio inferior son una de las principales causas de ingreso entre la población infantil.

Objetivo: Describir la incidencia de los virus respiratorios, en especial del metapneumovirus humano y la clínica asociada en niños menores de 2 años.

Materiales y métodos: Durante los meses de enero a junio del 2006 se han estudiado de forma prospectiva niños menores de 2 años hospitalizados con infección respiratoria del tracto inferior. En el ingreso se les realizó un aspirado nasofaríngeo para el estudio de virus respiratorios. Los métodos utilizados fueron: inmunofluorescencia indirecta para los virus de la gripe A y B (VGA, VGB), virus parainfluenza 1-3 (VPI1-3), adenovirus (ADV) y virus respiratorio sincitial (VRS); cultivo celular (MDCK, Hep-2, LLC-MK2) y tres PCRs con retrotranscripción (RT-PCR). Una primera RT-PCR múltiple para la detección de: VGA, VGB, VGC, ADV, VRSA y VRSB; una segunda RT-PCR múltiple dirigida a: rinovirus (RNV), enterovirus (EV), coronavirusOC43 (CoVOC43), coronavirus229E (CoV229E) y los virus parainfluenza 1-4 (VPI1-4). Una tercera RT-PCR se utilizó para la detección y estudio filogenético del metapneumovirus humano (MPVh). El análisis filogenético del MPVh se realizó a partir de un fragmento de 450 pares de bases del gen de fusión (F) con el programa MEGA versión 3.1, obteniendo el alineamiento de secuencias con el programa ClustalX 1.81.

Resultados: Durante el período de estudio se incluyeron 99 niños (59% niños, 41% niñas), con una edad media de 3,2 meses. El 75% fueron hospitalizados por una bronquiolitis y el 25% restante por una neumonía. Los virus respiratorios representaron el 62% de las etiologías diagnosticadas. El VRSA (21%) fue el virus más detectado, seguido del MPVh (13%), el RNV (8%) y con menor frecuencia el ADV, VGA, VPI3 y CoVOC43. En el 12% de los pacientes se detectó una coinfección vírica, siendo ADV y RNV los principales virus implicados. En los casos de neumonía, el MPVh (41%) fue el principal agente etiológico, siendo en todos los casos el único microorganismo detectado. Las infecciones por MPVh se produjeron entre los meses de febrero y abril, con una mayor incidencia en marzo (46,6%). El alineamiento de secuencias del gen F del MPVh mostró que las 17 cepas detectadas fueron del subtipo A1.

Conclusiones: El MPVh es una importante causa de hospitalización en niños menores de 2 años con infección del tracto respiratorio inferior, siendo el principal agente etiológico implicado en los casos de neumonía.

095

EVALUACIÓN DE MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE VIRUS RESPIRATORIOS EN NIÑOS: ¿SÓLO UN MÉTODO?

M. Jiménez, M.D. Martínez-Aparicio, N. Tormo, J.C. Latorre, D. Navarro y C. Gimeno

Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario Facultad de Medicina de Valencia.

Introducción: Durante el primer año de vida, la bronquiolitis es la forma clínica más frecuente de la infección vírica del tracto respiratorio inferior. Se manifiesta en forma

de brotes epidémicos durante los meses de invierno que conllevan un notable incremento del número de ingresos hospitalario. El Virus respiratorio sincitial (VRS) es el principal agente etiológico, pero no el único. La imposibilidad de precisar la etiología de las bronquiolitis con base en la clínica y la disponibilidad de tratamiento específico eficaz frente al VRS hacen necesario el uso de técnicas rápidas de diagnóstico virológico en estos casos. Los métodos moleculares son de elección por su elevada sensibilidad, pero no están al alcance de cualquier laboratorio; resulta por lo tanto necesaria la evaluación de otros métodos de diagnóstico rápido.

Objetivos: Comparar la eficacia diagnóstica de la inmunocromatografía (IC) y la inmunofluorescencia (IF) para el diagnóstico de infecciones respiratorias causadas por el VRS.

Material y métodos: Las secreciones nasofaríngeas fueron obtenidas mediante aspiración y enviadas al laboratorio refrigeradas (2-8°C). Se realizó la IC para VRS (Binax®) según las instrucciones del fabricante. Para la IF se procesaron las muestras y el sedimento se depositó sobre portaobjetos de IF que fueron teñidos con un panel de anticuerpos monoclonales específicos frente a VRS, adenovirus, virus parainfluenza 1, 2, 3 y 4, virus influenza A y B (2003-2006) y metapneumovirus (Chemicon®) y revelados con un conjugado marcado con fluoresceína.

Resultados: En los cuatro años estudiados se analizaron un total de 1971 muestras, 309 en 2003, 525 en 2004, 611 en 2005 y 526 en 2006. El 41,5% (817/1971) del total de las muestras fueron positivas, de las cuales el 82,5% (686) fueron positivas para VRS y un 16% (131) fueron positivas para otros virus (15, parainfluenza 1; 4, parainfluenza 2; 52, parainfluenza 3; 12 parainfluenza 4; 33 influenza A; 2 influenza B; 12 adenovirus; 2, metapneumovirus). Del total de muestras positivas para VRS constatamos un 3% (31) de discordancias; de éstas el 93,5% (29) fueron IC negativas e IF positivas, y sólo el 6,5% (2) fueron IC VRS positivas/ IF negativas.

Conclusiones: La IC de VRS es un método válido y recomendable para el diagnóstico de las infecciones del tracto respiratorio inferior por VRS, especialmente si se considera su simplicidad y rapidez; no obstante, sólo la práctica de ambas determinaciones garantiza una máxima eficacia diagnóstica.

IgM y IgG frente a VTOS (Diesse). El diagnóstico reflejado en el volante de solicitud del médico fue de síndrome febril en 278 pacientes, de neumonía en 50 pacientes, de síndrome neurológico en 8 pacientes y de exantema en un paciente. Se detectó IgG anti-VTOS en 63 pacientes (18,7%) y sólo se detectó IgM en un paciente. Este último paciente tenía una meningitis linfocitaria por VTOS, diagnosticada por cultivo del LCR en células Vero. El segundo objetivo del trabajo fue investigar posibles reservorios animales de VTOS en la provincia de Granada. Se procesaron 81 muestras de suero de: 11 caballos, 17 gatos, 18 perros, 17 vacas y 18 cabras. Las muestras de caballo, gato y perro procedían de un laboratorio veterinario de Granada, y las de vaca y cabra del Laboratorio de Sanidad Animal de la Junta de Andalucía (Santa Fé, Granada). La determinación de anticuerpos frente a VTOS se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), utilizando una cepa española de VTOS y antisueros específicos para cada especie animal. La IFI fue positiva en 39 muestras (48%): 11 caballos (100%), 12 gatos (70,6%), 10 perros (55,6%), 5 vacas (29,4%) y una cabra (5,6%).

Conclusiones: 1. VTOS no parece producir infecciones leves. Es especialmente neurotrópico, lo que lo diferencia de Nápoles y Sicilia. 2. Aunque habría que confirmar los resultados positivos en animales, la elevada seroprevalencia detectada en éstos, hace pensar que podrían existir reservorios del virus que lo mantengan durante los meses fríos en los que el vector no está circulando.

096

IMPLICACIÓN DE VIRUS TOSCANA EN PROCESOS NO NEUROLÓGICOS DE LA COMUNIDAD Y ESTUDIO PRELIMINAR DE SUS POSIBLES RESERVORIOS EN LA PROVINCIA DE GRANADA

M. Pérez-Ruiz¹, S. Sanbonmatsu², B. Palop³. M. de la Rosa¹ y J.M. Navarro-Mari¹

¹Servicio de Microbiología. H.U. Virgen de las Nieves. ²Hospital Santa Ana, Motril, Granada. ³Hospital Clínico San Cecilio. Granada.

El virus Toscana (VTOS) es el segundo agente productor de meningitis aséptica después de enterovirus en España. Desde 1988, se han detectado 22 casos de meningitis por VTOS en Granada. Las elevadas tasas de seroprevalencia en este área (25%) hacen suponer que VTOS puede producir además infecciones leves o asintomáticas, como lo hacen otros flebovirus (Nápoles y Sicilia) con los que VTOS está emparentado. VTOS se transmite por la picadura de un flebotomo que circula en los meses cálidos, durante los cuales se dan la mayoría de los casos neurológicos. El primer objetivo de este trabajo fue determinar la implicación de VTOS en patología humana en cuadros no neurológicos. Para ello, se rescataron las muestras de suero recibidas en el laboratorio durante el período mayo- septiembre 2006 de 337 pacientes con determinaciones serológicas negativas frente a los patógenos solicitados. A estas muestras se les realizó determinación de