

Sesión 17: Patógenos especiales

259

PRIMERA DESCRIPCIÓN DE *R. MONACENSIS* COMO PATÓGENO HUMANO

I. Jado¹, J.A. Oteo², M. Aldámiz³, H. Gil¹, R. Escudero¹, V. Ibarra², A. Portillo², C. García-Amil¹, I. Rodríguez-Moreno¹ y P. Anda¹

¹Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales, Centro Nacional de Microbiología (CNM), Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid. ²Área de Enfermedades Infecciosas, Hospital San Pedro, Logroño, La Rioja. ³Servicio de Medicina Interna, Hospital Txagorritxu, Vitoria, Álava.

Introducción: Las rickettsiosis humanas constituyen un grupo de enfermedades difíciles de identificar, tanto por la dificultad de la metodología de laboratorio como por la inespecificidad del cuadro clínico que presentan. Recientemente hemos desarrollado en nuestro laboratorio un método molecular para la detección e identificación de rickettsias a nivel de especie a partir de muestras clínicas y ambientales. Ello nos ha permitido ampliar la Cartera de Servicios del Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos Especiales (EPE), dotando al CNM de un método eficaz para la detección de este grupo de agentes, servicio que el EPE- CNM ofrece a los hospitales del Sistema Nacional de Salud. Además, hemos identificado el primer caso humano documentado de infección por

Rickettsia monacensis, especie descrita recientemente a partir de un ejemplar de *Ixodes ricinus* recogido en un parque de Berlín, y de poder patógeno desconocido hasta la fecha.

Objetivo: Estudiar la etiología en pacientes con sospecha de rickettsiosis.

Material y métodos: Se utilizó el espacio intergénico *rrl-rrf* 23S-5S rRNA para el estudio de sangres procedente de pacientes con sospecha de fiebre botonosa. El método consistió en una amplificación mediante PCR, seguida de una hibridación con sondas genéricas y específicas mediante hibridación inversa (Reverse Line Blotting). Para la confirmación de la especie implicada, se llevó a cabo la secuenciación de *rOmpA* y *gltA*.

Resultados y conclusiones: Las muestras de dos pacientes de La Rioja y Álava hibridaron exclusivamente con la sonda genérica para todas las rickettsias y con la genérica para las especies del grupo de las fiebres manchadas. La secuencia de los genes *rOmpA* y *gltA* mostró una identidad del 100% con las descritas para *R. monacensis*. Así mismo, estudios adicionales, incluido el cultivo del agente a partir de sangre, confirmaron la presencia de *R. monacensis*. Por lo tanto, se describe por primera vez el poder patógeno de esta especie de *Rickettsia* en humanos.

Trabajo financiado por la RTIC Enfermedades bacterianas transmitidas por garrapatas. (EBATRAG, G03/057) del Fondo de Investigación Sanitaria, ISCIII, M^o Sanidad y Consumo, España.

260

ESTUDIO DE VECTORES DE RICKETTSIOSIS Y EHRLICHIOSIS GRANULOCÍTICA HUMANA EN CASTILLA LA MANCHA

R. Carranza¹, F.J. Márquez², J.R. García-Escribano¹, J. Fernández¹, J. Domínguez¹ y G. Ruiz¹

¹Laboratorio de Microbiología, H.G. Mancha Centro, Alcázar de San Juan. ²Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén.

Introducción: Las infecciones transmitidas al ser humano por garrapatas, cuyos reservorios son animales, constituyen un claro ejemplo de enfermedades emergentes de escaso conocimiento científico y sanitario en España. Nuestro estudio pretende estimar la presencia de garrapatas, vectores potenciales de *Rickettsia sp* del grupo de las Fiebres Manchadas (SFG) y de *Ehrlichia phagocytophila*, agente de la Ehrlichiosis Granulocítica Humana (EGH), en los espacios naturales de Castilla La Mancha (CLM) y si se hallaban colonizadas por las citadas bacterias.

Material y métodos. Las garrapatas fueron capturadas, durante los meses de máxima actividad vital en distintos espacios naturales protegidos de CLM (humedales y serranías), directamente de la vegetación utilizando el método de la bandera. Se identificaron según las claves taxonómicas pertinentes y fueron estudiadas por lotes, clasificados por especies y procedencia geográfica. Una vez realizada la extracción del DNA de los distintos lotes, se amplificaron genes específicos de *Rickettsia sp* y *Ehrlichia/Anaplasma sp* mediante PCR-RFLP. Los amplificadores obtenidos en cada lote se caracterizaron usando endonucleasas de restricción. El DNA amplificado, una vez purificado, fué secuenciado y se realizó una electroforesis.

Resultados: En total se estudiaron 137 garrapatas, divididas en 21 lotes de menos de 9 especímenes cada uno. 104 ejemplares pertenecieron al complejo *Rhipicephalus sanguineus*, 19 fueron *Hyalomma marginatum* y 14 *Dermacentor marginatus*. Se consideraron positivos los lotes en los que se amplificaron al menos 2 de los 3 marcadores moleculares considerados (fragmentos de genes *gltA*, *ompA* y *ompB*): 4 lotes de *Rhipicephalus sanguineus*, 1 de *Hyalomma marginatum* y 1 de *Dermacentor marginatus*. Detectamos 3 genoespecies de *Rickettsia sp*: *Rickettsia massiliae* en lotes de *Rhipicephalus sanguineus*, una especie del genogruppo *R. massiliae* en el lote de *Dermacentor marginatus* y una genoespecie próxima a *R. aeschlimannii* en un lote de *Hyalomma marginatum*. No conseguimos amplificar los fragmentos de *Ehrlichia sp* en las muestras.

Conclusiones: Confirmamos la presencia de garrapatas y especies de rickettsias del grupo SFG potencialmente patógenas en espacios naturales de CLM, no detectando *Ehrlichia phagocytophila*, posiblemente al no encontrar garrapatas vectores de EGH.

261

DIFERENCIAS CLINICO-EPIDEMIOLÓGICAS Y SEROLÓGICAS EN PACIENTES CON DEBONEL CAUSADO POR RICKETTSIA SLOVACA VS. DEBONEL CAUSADO POR CANDIDATUS RICKETTSIA RIOJA

V. Ibarra, A. Portillo, J.R. Blanco, L. Metola, M. Sanz, S. Santibáñez, L. Pérez-Martínez y J.A. Oteo

Área de Enfermedades Infecciosas y Medicina Preventiva, Hospital San Pedro. Logroño.

Introducción: El DEBONEL (necrosis eritema linfadenopatía tras picadura por *D. marginatus*) está causado por *Rickettsia slovaca*. No obstante, es posible que otras *Rickettsia* spp. estén implicadas en su etiología. Así, mediante PCR hemos identificado, en muestras de pacientes y en garrapatas retiradas de éstos, una *Rickettsia* spp. genéticamente próxima a las cepas RpA4/DnS14/DnS28 (Candidatus *R. rioja*).

Objetivo: Comparar las características clínico-epidemiológicas-serológicas de los pacientes en que se identifica *R. slovaca* en muestras clínicas o en las garrapatas implicadas en la picadura, con las de pacientes en los que se identifica *R. rioja*.

Material y métodos: Pacientes con DEBONEL (enero 2001-diciembre 2006) y PCR positiva para *Rickettsia (ompA)* en muestras clínicas o en sus garrapatas. Recogida de datos clínico-epidemiológicos-serológicos (IFI-*R. conorii*).

Resultados: En 2 de 46 pacientes con DEBONEL y en las 16 garrapatas retiradas de pacientes se ha detectado *Rickettsia* spp. En los 2 pacientes y en 8 garrapatas se ha identificado *R. rioja* y en las 8 restantes *R. slovaca*. La epidemiología (sexo, edad, distribución estacional y geográfica), la clínica y la evolución, han sido similares en los pacientes picados por garrapatas infectadas por *R. slovaca* y en los picados por garrapatas infectadas por *R. rioja* (o en los que esta especie se ha identificado en sangre). El diagnóstico serológico de rickettsiosis reciente se ha realizado en el 50% de los picados por garrapatas infectadas por *R. slovaca* y en el 25% de los picados por garrapatas infectadas por *R. rioja* (en éstos la seroconversión ha sido más tardía y los títulos de anticuerpos menores).

Conclusiones: En nuestro medio al menos la mitad de los DEBONEL están causados por Candidatus *R. rioja*. No existen diferencias epidemiológicas ni clínicas significativas entre pacientes infectados por *R. slovaca* o Candidatus *R. rioja*. La sensibilidad de la serología para el diagnóstico es baja, si bien es superior en los pacientes infectados por *R. slovaca* que en los infectados por Candidatus *R. rioja*. Además en estos últimos la detección de anticuerpos es más tardía y los títulos detectados son más bajos.

Agradecimientos: Proyecto FIS PI051460, M. Sanidad y Consumo.

262

INFECCIÓN POR RICKETTSIA TYPHI Y RICKETTSIA FELIS EN GATOS. ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA

I. Pons², M.M. Noguera¹, A. Ortuño³, J. Pla⁴, I. Sanfeliu² y F. Segura¹

¹Programa Asistencial de Patología Infecciosa, Corporación Sanitaria Parc Taulí (CSPT), Barcelona. ²UDIAT Centro Diagnóstico, CSPT, Barcelona. ³Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona. ⁴Clinica Veterinaria, Sabadell, Barcelona.

Introducción: El Tifus murino (TM) es una infección rickettsial transmitida por pulgas. Aunque suele ser benigna,

se han descritos algunos casos de infección severa e incluso muerte. Su agente etiológico es *Rickettsia typhi*. Clásicamente se había asociado a la presencia de ratas y sus pulgas. Desde hace algunos años se ha descrito un ciclo peridoméstico en el que también participan gatos, perros y sus pulgas. *Rickettsia felis* fue identificada como patógeno humano en 1994. Su infección produce una clínica similar al TM. Su ciclo de transmisión incluye a ratas, animales domésticos y sus pulgas.

Objetivos: El objetivo de este estudio es determinar la seroprevalencia de infección por *R. typhi* y *R. felis* en gatos de Cataluña.

Material y métodos: Se estudiaron 165 gatos procedentes de varias clínicas veterinarias del Vallés Occidental, Cataluña. Se recogieron las siguientes variables: edad, género, lugar de residencia, contacto con otros animales (perros y gatos). Se determinaron los anticuerpos mediante inmunofluorescencia indirecta, considerando positivos títulos $\geq 1/64$. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante test Chi-cuadrado, test exacto de Fisher y test de U de Mann-Whitney, considerándose significativa una $p < 0,05$.

Resultados: De los gatos estudiados, 87 (52,7%) eran hembras, 65 (39,4%) tenían menos de un año, 102 (61,8%) eran gatos domésticos, 125 (75,7%) habían tenido contacto con otros animales, 44 (26,6%) estaban infestados por pulgas. La seroprevalencia para *R. typhi* fue de 18,18%, mientras que la seroprevalencia para *R. felis* fue de 4,2%. Todas las muestras positivas mostraron títulos de 1/64. Tres muestras presentaron serología para ambas especies. En ninguna de las especies, se observaron diferencias significativas respecto a las diferentes variables estudiadas.

Conclusiones: Presentamos evidencias serológicas de la infección por *Rickettsia typhi* y *Rickettsia felis* en una población de gatos de Cataluña. **Keywords:** *Rickettsia typhi*, *Rickettsia felis*, gatos, Cataluña.

263

INFECCIÓN POR RICKETTSIA SLOVACA EN CATALUÑA. ESTUDIO DE SEROPREVALENCIA

M.M. Noguera¹, I. Pons², E. Antón¹, T. Muñoz³, B. Font¹, I. Sanfeliu² y F. Segura¹

¹Programa Asistencial de Patología Infecciosa, CSPT, Barcelona
²UDIAT Centro Diagnóstico, CSPT, Barcelona
³Departamento de Pediatría, CSPT, Barcelona.

Introducción/objetivos: En Cataluña, la Fiebre Botonosa Mediterránea (FBM), causada por *Rickettsia conorii* y transmitida por la garrapata *Rhipicephalus sanguineus*, es una enfermedad endémica. En 1996, A. Lakos describió una nueva rickettsiosis transmitida por garrapata (*Dermacentor marginatus*) y la denominó TIBOLA (Tick-borne lymphadenopathy). Su agente etiológico es *Rickettsia slovaca* perteneciente al grupo de las fiebres manchadas. Se han descrito diversos casos en países de Europa como Hungría, Francia o España, entre ellos los descritos por nuestro grupo. El objetivo del estudio es determinar la seroprevalencia de la infección por *Rickettsia slovaca* en nuestra zona.

Material y métodos: Se estudiaron 217 sujetos. La población se estratificó según edad y lugar de residencia (rural [R]: < 5,000; semiurbana [SU]: 5,000-50,000; urbana [U]: > 50,000 habitantes). Se recogieron las siguientes variables: edad, género, lugar de residencia, contacto con animales salvajes y de granja, contacto con perros, antecedentes de rickettsiosis y profesión. Se determinó la presencia de anticuerpos mediante inmunofluorescencia indirecta, considerando positivos títulos $\geq 1/40$. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante test Chi-cuadrado, test exacto de Fisher y test de U de Mann-Whitney, siendo significativa una $p < 0,05$.

Resultados: La seroprevalencia para *R. slovaca* fue de 5,5%. Ocho (3,7%) sueros presentaban títulos de 1/40, 2

(0,9%) de 1/80, 1 (0,5%) de 1/160 y 1 (0,5%) de 1/320. Al comparar los resultados con los obtenidos en un estudio previo, ocho (3,7%) sueros reaccionaron exclusivamente con antígenos de *R. slovaca*; uno reaccionaba con *R. slovaca* y Bar29 (1/40, 1/40, respectivamente), uno reaccionaba con *R. slovaca* y *R. conorii* (1/40, 1/40, respectivamente), y 2 con *R. slovaca*, *R. conorii* y Bar29 (1/160, 1/80, 1/320 y 1/320, 1/640, 1/1280). Teniendo en cuenta las reacciones cruzadas, la seroprevalencia de *R. slovaca* estaría entre el 3,7% y el 5,5%. La seroprevalencia de *R. slovaca* fue de 4,2% en U, 8,5% en SU y 7,1% en R. Se encontraron diferencias significativas respecto a la edad, siendo los sujetos positivos los que presentaban edad más avanzada (49,3 años [13 - 76] vs 33,48 años [0 - 91], $p = 0,021$).

Conclusiones: Presentamos evidencias serológicas de la infección por *R. slovaca* en la población de Cataluña.

264

BARTONELLA, CAUSA EMERGENTE DE ENDOCARDITIS CON HEMOCULTIVOS NEGATIVOS

L. Martín¹, M. Riera¹, M. del Río¹, F. Salva², M. Peñaranda¹ y J. Murillas¹

¹Servicio de Medicina Interna Infecciosa. ²Servicio de Microbiología. Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca.

Introducción: Las Bartonellas en los últimos años se han visto implicadas como agentes etiológicos de múltiples enfermedades infecciosas, entre ellas la endocarditis con hemocultivos negativos.

Objetivos: Describir y analizar los casos de endocarditis por Bartonella en el Hospital Universitario de Son Dureta (Palma de Mallorca) y conocer el porcentaje que suponen en nuestro medio.

Material y métodos: Se revisaron las historias clínicas de endocarditis durante el período 1995-2006 y se recogieron los casos diagnosticados de endocarditis por Bartonella. Se analizaron las variables: edad, sexo, factor epidemiológico, válvula afectada, afectación extravalvular, diagnóstico, tratamiento y evolución.

Resultados: Durante el período estudiado hubo 138 casos de endocarditis infecciosa, de los cuales 8 cursaron con hemocultivos negativos (dos casos por *Coxiella burnetii*, 5 por Bartonella -uno de ellos mixto con fiebre Q- y en 2 no hubo diagnóstico microbiológico). Los 5 casos de endocarditis por Bartonella se produjeron en varones entre 30 y 72 años, en 4 se recogió el antecedente de contacto con gatos. Solo dos pacientes presentaban valvulopatía previa. En todos se afectó la válvula aórtica. Tres de ellos tuvieron clínica extracardiaca en forma de aneurisma cerebral y abdominal e infarto esplénico. Los 5 presentaron serología para Bartonella positiva (títulos > 1/800). En 3 se realizó PCR de tejido valvular con resultado positivo, solo en uno se determinó la especie (*B. henselae*), hubo un caso con cultivo de líquido pericárdico positivo. Dos pacientes presentaron serología positiva también para *Chlamydia* y otros dos para *Coxiella burnetii* (uno de ellos con PCR de tejido valvular positiva para ambos gérmenes). Los 5 precisaron tratamiento quirúrgico. La evolución fue aceptable en todos.

Discusión: La endocarditis por Bartonella supuso el 3,6% de todas las endocarditis infecciosas en nuestro medio, siendo en la actualidad la primera causa de endocarditis con hemocultivos negativos. En casi todos los casos puede recogerse el antecedente epidemiológico de contacto con gatos. La válvula afectada con más frecuencia es la aórtica y la afectación extracardiaca no es inusual. La serología es fundamental para el diagnóstico, sin embargo es habitual encontrar reacciones cruzadas con *Coxiella burnetii* y *Chlamydia*, por lo que la PCR del tejido valvular puede ser de gran ayuda para confirmar el diagnóstico. Aunque todos los casos necesitaron recambio valvular, la evolución es favorable.

265

INFECCIONES POR ANAPLASMA SPP Y BARTONELLA SPP EN CIERVOS Y JABALÍS DE LA RIOJAA. Portillo¹, L. Pérez-Martínez¹, P. Maya², S. Santibáñez¹, J. Herrera³ y J.A. Oteo¹¹Área de Enfermedades Infecciosas (Centro de Rickettsiosis y Enfermedades Transmitidas por Artrópodos Vectores), Hospital San Pedro, Logroño; ²Departamento de Alertas Sanitarias, Área de Prevención y Control de Epizootias, Tragega S.A., Madrid; ³Sección de Caza, Consejería de Turismo, Medio Ambiente y Política Territorial, Logroño.**Introducción:** Los ciervos y jabalís pueden emplearse como animales centinela para monitorizar infecciones transmitidas por garrapatas.**Objetivo:** Proporcionar datos preliminares sobre la presencia de *Anaplasma* y *Bartonella* en ciervos y jabalís en La Rioja, y en sus garrapatas.**Material y métodos:** Entre octubre 2005 y enero 2006 se recogieron muestras de sangre con EDTA de 13 ciervos y 5 jabalís procedentes de batidas. Se recolectaron sus garrapatas y se clasificaron como *Ixodes ricinus* (n = 54), *Dermacentor marginatus* (n = 10) y *Haemaphysalis punctata* (n = 6). Las muestras de sangre se centrifugaron 10 min. a 3500 r.p.m. y se separaron alícuotas de plasma, capa leucocitaria y eritrocitos. La detección en sangre y en garrapatas de *Anaplasma* spp. y *Bartonella* spp. se llevó a cabo por PCR, con cebadores que amplifican los genes ARNr 16S y *rpoB*, respectivamente.**Resultados:** En 9 de 13 (70%) sangres de ciervos se detectó *Anaplasma*. En 4 de ellas la secuencia mostró 100% de identidad con *Anaplasma centrale*. Los 5 ejemplares restantes estaban infectados por *Anaplasma phagocytophilum*. No se detectó ADN de *Anaplasma* en jabalís. A su vez, *Bartonella* spp. fue detectada en 6 de 13 sangres de ciervo (46%) y en 1 de 5 (20%) de jabalí. Las secuencias de *rpoB* en ciervos mostraron entre 99,2 y 100% de identidad con *Bartonella schoenbuchensis*; en cambio la de jabalí presentó 100% identidad con *Bartonella henselae*. En 3 ciervos se demostró coinfección por *Anaplasma* y *Bartonella*. Por otra parte, 7 de 54 *I. ricinus* (12,96%) estaban infectadas por *Anaplasma* sp. y 1 de 54 (1,85%), por *Bartonella* sp. En *D. marginatus* y *H. punctata* no se detectó *Anaplasma* ni *Bartonella*.**Conclusiones:** Se detectó infección natural en ciervos por *A. centrale*, *A. phagocytophilum* y *B. schoenbuchensis*, existiendo en algunos casos coinfección por microorganismos de ambos géneros. Se demostró infección por *B. henselae* en jabalís. *Anaplasma* y *Bartonella* están presentes en *I. ricinus*, no habiéndose detectado por el momento en *D. marginatus* y *H. punctata* en nuestra área.**Agradecimientos:** Ayuda del F.I.S., M. Sanidad y Consumo (PI051460).

266

ASOCIACIÓN DE VARIANTES DE COXIELLA BURNETII CON DIFERENTES MANIFESTACIONES CLÍNICAS EN LA FASE AGUDA: ESTUDIO CLÍNICO Y AMBIENTALI. Jado¹, M. Bolaños², J.A. Oteo³, J. F. Barandika⁴, A. Toledo⁵, C. Gutiérrez⁶, H. Gil¹, R. Escudero¹, A. M. Martín-Sánchez², A. L. García-Pérez⁴, A. S. Olmeda⁵, C. García-Amil¹, E. Santana-Rodríguez², M. Rodríguez-Vargas¹, J.L. Pérez-Arellano³ y P. Anda¹¹Centro Nacional de Microbiología; ²Hospital Universitario Insular de Gran Canaria; ³Hospital de La Rioja; ⁴Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario (NEIKER Tecnalia); ⁵Facultad de Veterinaria, UCM; ⁶Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.**Introducción:** Las manifestaciones agudas de la fiebre Q, zoonosis producida por *Coxiella burnetii*, varían entre uncuadro respiratorio de gravedad variable y un cuadro febril con afectación hepática. Los motivos de esta diferente presentación clínica no están claros y hay autores que los relacionan con una diferente ruta de transmisión. En España observamos un claro patrón norte-sur en la incidencia de cada una de estas manifestaciones. En el País Vasco se describen un 95% de cuadros respiratorios, mientras que en Canarias este fenómeno se encuentra invertido (95% de cuadros de afectación hepática). Recientemente se ha descrito una variante de *C. burnetii* que carece del antígeno AdaA. Esta variante AdaA(-) se asocia a un entorno de ganado caprino y los autores la relacionan con la forma crónica de la fiebre Q.**Objetivos.** Estudiar las causas que determinan esta diferencia.**Material y métodos.** Se estudiaron por PCR y cultivo muestras de sangre y biopsias de pacientes con diferentes manifestaciones clínicas y origen geográfico. Se realizó *multilocus sequence typing* (MLST) con genes conservados, además de un estudio por PCR dúplex para la presencia de *Coxiella* (PCR *IS1111*) y *adaA*. Por otra parte, se estudiaron sueros de pacientes con las dos manifestaciones clínicas mediante serología con antígeno recombinante de AdaA (rAdaA). Finalmente, en 3 zonas (País Vasco, Madrid y Canarias) se estudió la circulación de cada una de las dos variantes mediante serología en ganado (vacuno, ovino y caprino) con rAdaA y detección por PCR en ganado, pequeños mamíferos y artrópodos.**Resultados y conclusiones.** Mediante este estudio demostramos una clara asociación en pacientes entre presencia/ausencia de AdaA y cuadros respiratorios/hepáticos. Una mayor circulación de las variantes *adaA* negativas se asocia con zonas donde el ganado caprino es el mayoritario y, al menos en el País Vasco, la circulación de variantes *adaA* positivas se asocia con un ciclo casi exclusivamente peridoméstico, en contraste con el activo ciclo silvestre observado en Canarias y Madrid.**Financiación:** INIA FAU2006-00002-C04-04 y RTIC EBA-TRAG (FIS G03/057)

267

VALORACIÓN DE UNA TÉCNICA DE ELFA MODIFICADA PARA EL CRIBADO SEROLÓGICO DE PACIENTES CON SOSPECHA DE BORRELIOSIS DE LYME (BL)

I. López, S. Raga, L. López, M.J. López* y J. Pérez-Irezábal

Servicio de Microbiología y Parasitología del Hospital de Cruces, Baracaldo y del Hospital de Galdakano*. Vizcaya. Servicio Vasco de Salud (Osakidetza).

Objetivo: Valorar una técnica de ELFA (Enzyme linked fluorescent assay, Bio-Merieux), para el despistaje serológico de *Borrelia burgdorferi* s.l., modificando/elevando el punto de corte-significación (de 1.0 a 2.0, valor VT), con el fin de reducir de forma importante el número de muestras a confirmar por Inmuno-blot (IB)**Material y método:** Durante el año 2006 se han recibido en el servicio de Microbiología de nuestro hospital (terciario, de mil camas y área de cobertura/referencia de una población de 400.000 habitantes), 765 muestras de suero y LCR para despistaje serológico de la borreliosis de Lyme (BL). A todas las muestras se les realiza de entrada un ELFA (con robot miniVIDAS, de Bio-Merieux), y dependiendo del resultado y de los datos clínicos consignados en la petición, con posterioridad, un Inmuno-blot (IB, EcoLine IgG/IgM. Virotech)**Resultados:** Con la técnica de cribado utilizada (ELFA, Bio-Merieux) se obtuvieron los resultados siguientes: negativo (vt < 0,75) 650 muestras, indeterminado (vt: 0,75-0,99) 45 muestras, y positivo (vt = / > 1,0) 70 muestras, de las cuales 42 corresponden a valores bajos de vt (1,0-1,99) y 28 a valores de 2,0 o superior. Dependiendo del resultado del ELFA y

de la clínica consignada en volantes de petición a 80 muestras se les realiza IB (IgG o/y IgM), concretamente a 10 muestras con ELFA negativo, 14 con ELFA indeterminado y a 56 con ELFA positivo (28 con valores $vt < 2,0$ y 28 con $vt = / > 2,0$). El Inmunoblot fue positivo en 21 muestras (en 48 negativo y en 11 indeterminado): en 1 de 10 (10%) con ELFA negativo, en 0 de 14 con ELFA indeterminado (0%), en 1 de 28 (3,6%) con ELFA positivo bajo ($vt: 1.0-1.99$), y en 19 de 28 (68%) con ELFA > 2.0 . Los dos pacientes positivos por IB (IgM) con ELFA negativo o positivo bajo, fueron muestras precoces de pacientes con contacto con garrapatas y sin otra clínica asociada en esa primera consulta.

Conclusiones: La técnica ELFA, con valores de VT igual o superior a 2,0, ha mostrado una buena sensibilidad (S. 19/21: 90%) y especificidad (E. 42/48: 88%), respecto al IB, por lo que parece idónea, por su sencillez y automatización, para el cribado serológico de pacientes con sospecha de Borreliosis de Lyme, permitiendo descartar un considerable número de muestras y reduciendo al mínimo aquellas que deben ser confirmadas por inmuno-blot ($< 4\%$)

268

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE UNA CEPA ATÍPICA DE *FRANCISELLA TULARENSIS* CAUSANTE DE BACTERIEMIA SEVERA

R. Escudero¹, M. Elía², J.A. Sáez-Nieto¹, L. Herrera¹, J.A. Galán³, M. Ruiz², V. Menéndez³, G. Royo², I. Jado¹, H. Gil¹, M. Rodríguez-Vargas¹ y P. Anda¹

¹Laboratorio de Espiroquetas y Patógenos, Servicio de Bacteriología, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid; ²Microbiología y ³Urología, Hospital General Universitario de Elche, Alicante.

Introducción: Desde la reciente reorganización taxonómica de *Francisella* spp se han descrito cepas de diferente origen geográfico que no se encuadran en el nuevo esquema propuesto. En este trabajo realizamos un estudio de una cepa aislada de un paciente y cuya identificación preliminar fue *Francisella tularensis*.

Objetivo: Caracterización de una cepa atípica de *Francisella tularensis* aislada de sangre y de orina.

Material y métodos: Caso clínico: Varón de 43 años, con antecedentes de litiasis renal, que presenta fiebre, mialgia, diarrea y dolor en fosa lumbar izquierda. Con el diagnóstico de pielonefritis aguda obstructiva se inicia tratamiento con aztreonam y amoxicilina/clavulánico. Los hemocultivos y el cultivo de orina revelaron cocobacilos Gram negativos, preliminarmente identificados como *Francisella*. Ante el deterioro del cuadro clínico se cambia el tratamiento a meropenem y tobramicina con mejoría. El aislado (FNSp-1) se caracterizó por aglutinación, secuenciación del 16S rRNA y *lpnA*, PCR de SSTR9, estudio de proteínas, PFGE y reactividad con monoclonales. Igualmente, se realizó un estudio serológico frente a la diferentes especies de *Francisella* spp. Después de conocer la etiología de la infección, el paciente refirió contacto con conejos.

Resultados: La secuencia del 16S rRNA fue prácticamente idéntica a *F. tularensis tularensis*. El árbol filogenético con la secuencia del *lpnA* agrupó FNSp-1 con la cepa de *F. novicida*-like australiana. Sin embargo, el SSTR9, el perfil de proteínas, pulsotipo y patrón de reactividad a monoclonales mostraron diferencias con la cepa tipo de *F. novicida novicida*, que se reflejaron en el inmunoblot.

Conclusiones: El aislamiento de esta cepa atípica de *Francisella* se suma a los recientes aislamientos de cepas que no se encuadran dentro del esquema taxonómico actual, lo que recomienda la necesidad de una revisión del mismo. Esta aportación abre un abanico de posibilidades de relevancia clínica y microbiológica y obliga a prestar atención sobre bacilos Gram negativos no fermentadores recuperados de pa-

cientes en la identificación microbiológica rutinaria, para asegurar el papel real de este microorganismo en la infección humana.

Financiado por la Red EBATRAG (FIS G03/057) y el proyecto intramural Instituto de Salud Carlos III MPY 1176/06

269

¿ES LA NOCARDIOSIS UNA INFECCIÓN COMUNITARIA EMERGENTE?

R.C. Güerri¹, G. Vallecillo¹, J.L. Gimeno-Bayón¹, F. Sánchez², C. Segura³ y M. Salvadó³

¹Servicio de M. Interna y E. Infecciosas. Hospital del Mar.

²Servicio de Epidemiología. Agencia de Salud Pública de Barcelona.

³Laboratori de Referència de Catalunya.

Introducción/Objetivo: La nocardiosis es una infección infrecuente en nuestro medio, cuya incidencia muestra una tendencia ascendente en relación con el incremento de factores inmunodepresores. El objetivo de este estudio es analizar las características clínico-epidemiológicas de los casos de nocardiosis diagnosticados en un hospital universitario de 455 camas durante un período de 3 años.

Métodos: Análisis retrospectivo (2002–2005) de los pacientes con infección documentada por *Nocardia* (aislamiento del microorganismo en muestras extrapulmonares, a partir del BAL, o en dos o más muestras seriadas de esputo).

Resultados: En el período de estudio se incluyeron 22 pacientes (19 varones) con edad media(DE) de 68(16) años; 3 pacientes (14%) se incluyeron en 2002, 4 (18%) en 2003, 9 (41%) en 2004 y 6 (27%) en el primer semestre de 2005. La puntuación media en el índice de comorbilidad de Charlson fue 3,23 (rango 1-7). Las patologías subyacentes fueron EPOC (17 de los 22 pacientes, 10 de ellos en tratamiento corticoideo continuo), insuficiencia cardíaca (6), diabetes (3) e infección VIH categoría C3 (3). El motivo de consulta principal fue sintomatología respiratoria subaguda. La radiología mostró consolidación lobar o multilobar en 9 pacientes (40%), patrón intersticial en 2 (10%) y hallazgos inespecíficos en el resto. El diagnóstico se realizó por aislamiento en muestra respiratoria en 19 casos (esputo 17, BAL 1, biopsia pulmonar 1), absceso en 2 casos y líquido peritoneal en 1. Se obtuvo la identificación molecular de 15 cepas: *N. asteroides* 13, *N. paucivorans* 1 y *N. brasiliensis* 1. Todas eran sensibles a sulfamidas, aminoglucósidos y carbapenémicos. La terapia empírica más utilizada fue cotrimoxazol (18 pacientes). Se logró resolución clínica en 17 casos. La infección fue la causa directa de la muerte en 5 pacientes (23%), todos ellos con EPOC muy severa (VEMS $< 30\%$) en tratamiento corticoideo continuo.

Conclusiones: La nocardiosis muestra una incidencia leve-mente creciente en nuestro medio. Se presenta como infección pulmonar subaguda extrahospitalaria en pacientes EPOC con factores inmunodepresores subyacentes y causa una elevada mortalidad.

270

ACTINOMICOSIS. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE CASOS ACONTECIDOS EN LOS ÚLTIMOS DIEZ AÑOS EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL

G. Sampérez, T. Campins, A. Forteza¹, A. Ramírez², M. Riera y C. Villalonga

Servicios de Medicina Interna, Anatomía Patológica¹ y

Microbiología² del Hospital Universitario Son Dureta.

Palma de Mallorca.

Objetivos: Descripción clínica de los casos de actinomicosis diagnosticados en nuestro centro en un período de 10 años (1996-2006).

Material y métodos: Revisión retrospectiva de los pacientes diagnosticados de Actinomycosis desde el año 1996 hasta 2006. Se analizaron variables: edad, género, enfermedades de base, localización, presencia de infecciones mixtas, método de diagnóstico definitivo, tratamiento y evolución.

Resultados: Durante el período revisado se han diagnosticado 12 casos de actinomycosis, de ellos 9 entre 2004-2006. Los pacientes, 9 varones y 3 mujeres, tuvieron una edad media de 51 años (rango 23-74). Como factores predisponentes: 5 referían enolismo importante y 1 paciente presentaba malnutrición, 3 padecían enfermedades neoplásicas o habían recibido tratamiento inmunosupresor y 2 eran diabéticos. Ningún caso era portadora de DIU. La enfermedad afectaba solo región oro-cervical en 4 casos; en 3 casos afectación abdomino-pélvica aislada y 2 afectación torácica; 3 pacientes presentaron enfermedad diseminada (torácica, pélvica y sistema nervioso central). Durante su evolución presentaron trayectos fistulosos 3 pacientes. El diagnóstico se estableció con estudio anatomopatológico en 9 casos y microbiológico en 3. En 4 pacientes se obtuvo crecimiento de otros microorganismos en muestras estériles. 9 casos tuvieron una evolución favorable, 3 padecieron recurrencias y 1 falleció. En todos los casos se realizó tratamiento antibiótico un mínimo de tres meses.

Conclusiones: La actinomycosis es una enfermedad poco frecuente y, probablemente infradiagnosticada. Habitualmente son pacientes con patologías de base o factores predisponentes. Los síntomas clínicos son frecuentemente engañosos, la histología es a veces poco fiable, así el diagnóstico se basa principalmente en métodos microbiológicos, que en ocasiones presentan bajo rendimiento debido a la falta sospecha clínica y tratamientos antibióticos previos. El diagnóstico de actinomycosis es raramente considerado. Con demasiada frecuencia la sospecha de actinomycosis se realiza por la histología después de una cirugía, que por si misma nunca es curativa.

271

INFECCIÓN INTRACRANEAL POR *PROPIONIBACTERIUM ACNES*

E. Garduño, M.T. Muñoz-Lozano, M. Fajardo, M.A. Galán-Ladero y J. Blanco

Servicio de Microbiología. Complejo H. Universitario de Badajoz.

Introducción: La infección intracranial por *Propionibacterium acnes* se asocia a la colocación de cuerpos extraños, traumatismo cerebral penetrante, drenaje de hematoma subdural crónico o inmunosupresión. Presentamos tres casos de infecciones intracraneales por este germen.

Caso 1: Varón de 54 años con debilidad progresiva en miembros izquierdos de predominio braquial. Cuatro meses antes se intervino de hematoma subdural subagudo tras precipitación. El TAC craneal mostró recidiva del hematoma subdural por lo que se reintervino mediante trépano frontal y drenaje que evacuó el hematoma subdural sobreinfectado. Se trató empíricamente con vancomicina, ceftazidima y metronidazol, consiguiendo la completa resolución de los síntomas. En el cultivo se aisló *Propionibacterium acnes* sensible a penicilina, amoxicilina-clavulánico, cefoxitina, clindamicina y resistente a metronidazol.

Caso 2: Varón de 32 años sin antecedentes de interés, se intervino de urgencia por sospecha de infección subgaleal secundaria a cirugía de meningioma en región fronto-parietal izquierda realizada tres semanas antes. Tras la reapertura del colgajo quirúrgico se obtuvo material hemático-purulento. En el cultivo anaerobio creció *Propionibacterium acnes* sensible a penicilina, amoxicilina-clavulánico, cefoxitina, clindamicina y resistente a metronidazol. Se administró amoxicilina-clavulánico durante ocho días; el paciente evolucionó sin complicaciones.

Caso 3: Mujer de 26 años que acude a Urgencias en estado comatoso. Era portadora desde 10 años atrás de una válvula ventrículo-peritoneal por hidrocefalia, con recambio valvular una semana antes del ingreso. El TAC craneal mostró hidrocefalia triventricular por malfunción valvular, por lo que se

procedió a ventriculostomía con drenaje ventricular externo, que fue cambiado varias veces por hemorragia intraventricular y obstrucción del catéter, colocándose finalmente una nueva válvula ventrículo-peritoneal. En el LCR se aisló *Propionibacterium acnes* sensible a penicilina, amoxicilina-clavulánico, cefoxitina, clindamicina y resistente a metronidazol.

Conclusiones: *Propionibacterium acnes* es una causa infrecuente de infección en neurocirugía. La terapia ideal no está establecida; sin embargo el paciente del caso 1 respondió al tratamiento con vancomicina y ceftazidima, mientras que los otros dos lo hicieron a amoxicilina-clavulánico.

272

PREVALENCIA DE LOS GENOTIPOS DE HPV DE ALTO RIESGO PARA CÁNCER DE CÉRVIX EN EL ÁREA SANITARIA DE ORENSE

A. Cid¹, B. Fernández¹, G. Esteban¹, M. Losada¹, J. García¹, L. Barbeyto¹, I. Paz¹, L.F. Saavedra² y J.L. Doval²

¹Servicio de Microbiología. ²Servicio de Ginecología. Complejo Hospitalario de Orense. España.

Objetivos: El cáncer de cuello uterino es una de las neoplasias más frecuentes y letales en las mujeres a nivel mundial. La baja incidencia en los países desarrollados se debe, en parte, a los programas de cribado. En nuestra área sanitaria se ha implantado además del cribado oportunista de HPV (citologías patológicas), un cribado en mujeres > de 35 años. Debido a la reciente comercialización de la vacuna HPV, es conveniente conocer que genotipos son los más frecuentes, ya que en nuestra área sanitaria no existen datos acerca de la prevalencia de los distintos genotipos de HPV.

Material y métodos: Se han recibido 724 muestras de exudado endocervical en el medio de transporte *ThinPrep PreservCyt Solution*, y procesado mediante la técnica de PCR: *Amplicor HPV Test* (Roche). Esta técnica hace una detección de screening de 13 genotipos de alto riesgo para cáncer cervical. Las muestras positivas se procesan por otra técnica de PCR: *Linear Array-Test de Genotipado HPV* (Roche) para identificar que genotipo está presente. Los genotipos que hemos considerado de alto riesgo son: 16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 67, 68, 69, 70, 73 y 82 (MM4). La detección de hasta 37 tipos de HPV se hace por determinación colorimétrica en tira de nitrocelulosa.

Resultados: De las 724 muestras procesadas, hemos identificado uno ó varios genotipos de alto riesgo en 111 muestras (15,3%). En 38 muestras, se han identificado al menos 2 genotipos de alto riesgo (34,2% de las muestras positivas). El genotipo más frecuente ha sido HPV-16 (35,1%). En segundo lugar: HPV-51 (13,5%), y le siguen HPV-53 (11,7%), HPV-18 y HPV-31 (10%), HPV-56 (9%), HPV-66 (8,1%), HPV-45, HPV-58 y HPV-59 (7,2%), HPV-39 y HPV-70 (6,3%), HPV-68 (4,5%). El genotipo HPV-33 sólo está en un 1,8% de las muestras positivas, y el genotipo HPV-35 en un 3,6%.

Conclusiones: Es importante conocer desde el punto de vista epidemiológico, la prevalencia de los distintos HPV circulantes. Por ahora, aunque hay que continuar evaluando un mayor número de muestras, se constata que el HPV-16 es el más frecuente. El HPV-18 (incluido en la futura cobertura vacunal), no es por ahora demasiado frecuente en nuestra área.

273

INFECCIONES CAUSADAS POR *SCEDOSPORIUM SPP* EN LOS AÑOS 2005 Y 2006 EN NUESTRO HOSPITAL

S. Paulos, C. Liébana, I. Pedrosa, J.M. Navarro, C. Miranda, M.D. Pérez y M.L. Serrano

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

Introducción: El género *Scedosporium* incluye dos especies: *Scedosporium apiospermum* y *Scedosporium proliferans*.

cans, ambos hongos oportunistas que causan infecciones localizadas (artritis, osteomielitis) y diseminadas, con elevada tendencia a invadir el SNC, asociadas en general a traumatismos tanto en pacientes inmunodeprimidos como inmunocompetentes. Son en general infecciones graves y de difícil tratamiento, ya que mayoritariamente las cepas aisladas son resistentes a los antifúngicos disponibles.

Objetivo: Describir las infecciones causadas por *Scedosporium* spp detectadas en los últimos 2 años en nuestro hospital.

Material y métodos: El período de estudio comprende desde enero de 2005 a diciembre de 2006. Para el diagnóstico de infecciones fúngicas, las muestras remitidas al laboratorio de microbiología se sembraron en Agar Sabouraud Dextrosa y Agar Micobiotic que se incubó a 30°C. La identificación se realizó mediante la observación macroscópica de las colonias y observación microscópica de tinciones con Azul de Lactofenol para visualizar las estructuras fúngicas.

Resultados: En total se han detectado 4 pacientes con infecciones causadas por *Scedosporium* spp. En tres se aisló *S. apiospermum* y en uno *S. prolificans*. Las muestras en las que se aisló *S. apiospermum* fueron: esputos, lesiones cutáneas y biopsia de seno paranasal respectivamente; *S. prolificans* fue aislado en muestras de hemocultivos y esputo del mismo paciente. En dos de los casos en los que se aisló *S. apiospermum* los pacientes seguían tratamiento con corticosteroides orales a causa de una enfermedad respiratoria severa. El paciente con infección por *S. prolificans* era un paciente con leucemia mieloblástica aguda en tratamiento con quimioterapia. En todos los casos el tratamiento inicial fue Voriconazol. En dos casos además se añadió Terbinafina (un caso de *Scedosporium apiospermum* y en el caso de *Scedosporium prolificans*.) Los tres pacientes con *Scedosporium apiospermum* evolucionaron favorablemente hacia la curación sin secuelas tras el tratamiento. El paciente infectado por *Scedosporium prolificans* falleció.

Conclusión: Las infecciones por *Scedosporium* spp, aunque infrecuentes, deben ser consideradas, sobre todo en pacientes inmunodeprimidos.