

Aspectos microbiológicos y clínicos de las enfermedades infecciosas emergentes

304

STAPHYLOCOCCUS AUREUS SENSIBLE A OXACILINA PRODUCTOR DE LEUCOCIDINA DE PANTON-VALENTINE. DESCRIPCIÓN DE TRES CASOS DE INFECCIONES ADQUIRIDAS EN LA COMUNIDAD

I. Sánchez¹, M.F. Guzmán¹, A. Ortega¹, M. Muñoz¹, A. Ramos², M.A. Romera³, L. Ley⁴, E. Silva⁵, A. Vindel⁶ y D. Dámaso¹
Servicio de Microbiología¹, Medicina Interna², Unidad de Cuidados intensivos³, Neurocirugía⁴ y Oftalmología⁵, Hospital Universitario Puerta de Hierro. Sección de Bacteriología⁶, CNM. Inst. Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

Introducción: *Staphylococcus aureus* productor de leucocidina de Pantón-Valentine (LPV) está emergiendo como un serio problema a nivel mundial. Habitualmente causa infecciones de piel y partes blandas, particularmente abscesos recurrentes, y en los últimos años está aumentando su incidencia como responsable de neumonías necrotizantes con alta mortalidad, sobre todo en población joven inmunocompetente.

Objetivo: Comunicar la existencia de tres casos de *S. aureus* productores de LPV en cepas sensibles a oxacilina de origen comunitario.

Materiales y métodos: *Descripción caso 1:* mujer de 42 años sin antecedentes de interés que presenta un cuadro de fiebre, tos y expectoración que no mejora con azitromicina. En 48 horas precisa ingreso en UCI con ventilación asistida. El patrón radiológico muestra una afectación alveolar multifocal y multilobular con nódulos múltiples y cavitados. Se envían al Servicio de Microbiología muestras de aspirado bronquial y lavado broncoalveolar. *Descripción caso 2:* varón de 33 años que ingresa por fiebre alta, dolor de cabeza y parestesias en el brazo izquierdo durante 10 días. Destacar de la historia clínica que en los últimos 5 años ha presentado forúnculos recurrentes y en las últimas 6 semanas ha tenido 2 episodios de abscesos de piel. El estudio por técnicas de imagen muestra un absceso cerebral parietal derecho con engrosamiento de la duramadre próximo a la lesión ósea. Se envían al Servicio de Microbiología muestras del absceso cerebral. *Descripción caso 3:* varón de 68 años que acude a consulta con un cuadro de 24 horas de evolución, dolor, enrojecimiento y picor en el ojo derecho sin otra sintomatología. Se diagnostica de úlceras corneales infiltradas y se envía al Servicio de Microbiología una muestra del raspado corneal. En todos los casos, la identificación y estudio de sensibilidad del microorganismo aislado se realizó mediante el sistema Wider® (Soria Melguizo S.A.). Además, se confirmó la sensibilidad a oxacilina utilizando cefoxitina mediante disco-placa según normas del CLSI 2007 y se realizó una "PCR múltiple" para la detección de LPV, gen *mec* y confirmación de *S. aureus*.

Resultados: En los tres casos comentados se aislaron *Staphylococcus aureus* sensibles a oxacilina, positivos para la leucocidina de Pantón-Valentine (Luk-PV gen). La paciente del caso 1 fue tratada con cloxacilina durante 14 días mostrando una lenta mejoría hasta su recuperación. EL paciente del caso 2 fue tratado con cloxacilina, resección quirúrgica de la lesión ósea y del absceso cerebral adyacente, con buena evolución posterior. El cuadro 3 cedió tras la aplicación de colirio de cefazolina y cefadroxilo oral.

Conclusiones: La aparición de infecciones comunitarias por cepas de *S. aureus* LPV positivas, debe ser tenido en cuenta especialmente en pacientes con neumonía comunitaria.

ria grave. Un diagnóstico e identificación precoz de la presencia de la toxina es vital de cara a instaurar un tratamiento adecuado, y puede ayudar en el manejo clínico del enfermo, sobre todo en infecciones graves.

305

DETECCIÓN EN ANDALUCÍA DEL VIRUS WEST NILE EN CULEX PIPIENS

A. Vázquez¹, M.P. Sánchez-Seco^{1,2}, L. Hernández¹, S. Ruiz³, C. Aranda⁴, E. Marqués⁵, R. Escosa⁶, M.A. Bustillo¹, F. Molero¹, J. Moreno³ y A. Tenorio¹

¹Laboratorio de Arbovirus y Enfermedades Viricas Importadas. CNM.ISCIII, ²Unidad de Alertas y Emergencias. CNM.ISCIII, Centro Nacional de Microbiología. ³Servicio de Control de Mosquitos, Diputación Provincial de Huelva. ⁴Servicio de Control de Mosquitos. Consell Comarcal del Baix Llobregat, Barcelona. ⁵Servicio de Control de Mosquitos Badía de Roses y Aiguamolls del Ampurdà, Gerona. ⁶Servicio de Control de Mosquitos del Delta del Ebro, Tarragona.

Introducción y objetivos: El virus West Nile (WNV) se mantiene en la naturaleza en un ciclo entre aves y mosquitos, principalmente del género *Culex* sp. El hombre, si es picado por un mosquito infectado, puede padecer un síndrome febril leve (19% de las infecciones) o complicaciones neurológicas (1%) siendo la encefalitis el cuadro más común. Desde su entrada en 1999 en Estados Unidos, el virus se ha expandido por todo el continente americano, donde ha causado miles de casos y cientos de muertes. Sin embargo, en Europa, donde circulan 4 linajes con diferente patogenicidad, produce brotes autolimitados. En la década de los 90, aumentó la frecuencia de los brotes especialmente en la cuenca del Mediterráneo, incrementándose también el número de casos y la severidad de la enfermedad.

En nuestro entorno geográfico, se ha podido detectar el virus en Portugal, Francia y Marruecos. En nuestro país, se ha descrito un caso de infección neurológica producida por WNV y se ha demostrado la presencia de anticuerpos neutralizantes en población humana y en aves no migrantes. Todo ello indica que el virus circula en España a pesar de que hasta el momento no se haya detectado de forma directa. La detección del virus en mosquitos capturados en diferentes humedales del país fue el principal objetivo que nos planteamos en este trabajo.

Materiales y métodos: Entre los años 2001 y 2006 se capturaron mosquitos en Cataluña y Andalucía que se estudiaron amplificando un fragmento del gen de la polimerasa viral (NS5). Se utilizó una RT-Nested-PCR genérica capaz de amplificar cualquier miembro del género flavivirus. El método se diseñó en una región que permite realizar estudios de epidemiología molecular al analizar la secuencia del fragmento amplificado.

Resultados y conclusiones: Se analizaron 6364 pools de mosquitos, estimándose el número de ejemplares analizados en 108053. De estos pools 3756 se obtuvieron en los humedales andaluces y el resto en Cataluña. Se estudiaron 23 especies diferentes correspondiendo 3706 pools a *Cx. pipiens* (principal vector de WNV en nuestro entorno). En un pool de *Cx. pipiens* obtenido en junio de 2006, se ha encontrado una secuencia similar a las descritas para WNV. Dicha secuencia es diferente a las conocidas hasta el momento y tras un análisis filogenético de 500 nucleótidos de la misma parece definir un nuevo linaje del virus.

Esta es la primera vez que se detecta en España el WNV de forma directa. La detección en los mosquitos vectores, confirma la presencia del virus en nuestro entorno donde ya se tenían pruebas de infección humana y en aves. La descripción de un nuevo linaje abre nuevas posibilidades de estudio acerca de su patogenicidad y su papel como agente causal de cuadros febriles y/o neurológicos en el hombre.

306

INVESTIGACIÓN SOBRE LA PRESENCIA DE RICKETTSIA SP., ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM, BORRELLIA BURGDORFERI SENSU LATO, BARTONELLA SP. Y COXIELLA BURNETII EN NEOTROMBICULA AUTUMNALIS

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

Área de Enfermedades Infecciosas, Hospital San Pedro-CIBIR, La Rioja (España).

Introducción: Los trombicúlidos son artrópodos acariformes capaces de causar enfermedad por diferentes mecanismos. De ellos, *Neotrombicula autumnalis* es la única especie conocida en Europa occidental. En La Rioja se ha descrito su presencia en zonas montañosas, provocando cada año brotes epidémicos de dermatitis pruriginosa con o sin fiebre en humanos y muerte de numerosos perros en la época de actividad del ácaro (finales de verano-mediados de otoño). No se ha demostrado su capacidad vectorial, si bien otros trombicúlidos transmiten infecciones en otras partes del planeta (*Orientia tsutsugamushi*).

Objetivos: Investigar la presencia de *Rickettsia* sp., *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Bartonella* sp. y *Coxiella burnetii* en larvas de trombicúlidos (*N. autumnalis*) recogidas en La Rioja.

Material y métodos: Recogida de 6 gr. de larvas de *N. autumnalis* (más de mil ejemplares) sobre la vegetación mediante técnica de arrastre en septiembre de 2005. Distribución en lotes para la extracción de ADN. Realización de PCRs para la detección de *Rickettsia* sp., *A. phagocytophilum*, *B. burgdorferi sensu lato*, *Bartonella* sp. y *C. burnetii*.

Resultados y conclusiones: Todos los intentos de amplificación por PCR para la detección de bacterias de los cinco géneros señalados fueron negativos. En nuestro medio, la parasitación por *N. autumnalis* no es un factor de riesgo para sufrir una infección por los microorganismos estudiados.

Agradecimientos: Este trabajo se ha realizado gracias a una ayuda a proyectos de investigación en el Programa "Fomenta 2007" concedida por la Consejería de Educación, Cultura y Deporte del Gobierno de La Rioja (2007/14).

307

PERFIL METABÓLICO DE 2 COMBINACIONES FIJAS DE ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDOS (TENOFVIR/EMTRICITABINA VS ABACAVIR/LAMIVUDINA). BICOMBOMET, UN SUBESTUDIO DEL ESTUDIO BICOMBO.

M. Saumoy¹, J. Ordoñez², P. Barragan¹, E. Martínez³, E. Ribera⁴, R. Bonet², H. Knobel⁵, E. Negro⁶, J.M. Gatell³ y ¹D. Podzamczar

¹Servei de Malalties Infeccioses. ²Bioquímica. ³Servei de Malalties Infeccioses. ⁴Servei de Malalties Infeccioses. ⁵Servei de Medicina Interna. ⁶Servei de Malalties Infeccioses.

Introducción: Los fármacos antiretrovirales pueden producir alteraciones en el perfil metabólico que pueden causar un aumento del riesgo cardiovascular (RCV). En los últimos años se han comercializado varios fármacos con menos impacto metabólico. El objetivo de este estudio fue comparar el perfil metabólico y el RCV estimado de 2 combinaciones fijas de análogos de nucleósidos: tenofovir/emtricitabina (TDF/FTC) y abacavir/lamivudina (ABC/3TC) en pacientes con carga viral indetectable.

Métodos: BICOMBO es un ensayo multicéntrico, que compara TDF/FTC y ABC/3TC en pacientes con carga viral indetectable. En el subestudio metabólico se determinaron, en ayunas, colesterol total (CT), colesterol -VLDL, -HDL y -LDL, subfracciones de LDL, apo A-I, apo B, triglicéridos

(TG), glucosa, insulina, péptido-C e índice de HOMA basalmente (BL) y a los 12 meses. La estimación del RCV se evaluó con la ecuación de Framingham. El t-test no pareado o el test U de Mann-Whitney se usaron para hacer comparaciones entre ramas y el t-test pareado o test de Wilcoxon's para hacer comparaciones entre los datos basales y del mes 12.

Resultados: Se evaluaron 103 pts (TDF/FTC n = 55 y ABC/3TC n = 48). Basalmente las variables metabólicas y demográficas fueron comparables entre los 2 grupos excepto para la insulina (TDF 46.3 vs. 61.1 pmol/L, p = 0,06). Al mes 12 se observó un aumento significativo de CT, c-LDL y apo-B, pero también de c-HDL y apo A-I en la rama de ABC/3TC comparado con TDF/FTC (p < 0,001, < 0,001, < 0,001, 0,006 y < 0,001). A pesar de estos cambios, los cocientes c-LDL/c-HDL y apo A-I/apo-B no se modificaron en ninguna de las 2 ramas. En las 2 ramas se observó un aumento en las subfracciones pequeñas y densas de c-LDL (4, 5 y 6) (ABC/3TC 36,8%, p < 0,001; TDF/FTC 22,2%, p = 0,004), pero sólo en la rama de ABC/3TC se observó un aumento del fenotipo más aterogénico B (p = 0,028) y una disminución en el tamaño de c-LDL (p = 0,001). No se observaron cambios significativos en los niveles de TG ni en la estimación del RCV. En la rama de TDF/FTC los niveles de insulina aumentaron, pero el índice de HOMA no se modificó.

Conclusiones: Hemos identificado cambios cuantitativos en el perfil lipídico inducido por TDF/FTC y ABC/3TC. ABC/3TC se asoció a un perfil de c-LDL más aterogénico aunque la estimación del RCV no se modificó en ninguna de las 2 ramas.

308

UNA ENFERMEDAD CAUSADA POR *RICKETTSIA SLOVACA*. A PROPÓSITO DE 36 CASOS DIAGNOSTICADOS EN CATALUNYA

E. Antón^a, T. Muñoz^b, F.J. Travería^b, B. Font^a, I. Pons^c, M.M. Nogueras^a, I. Sanfeliu^c, M. Quesada^a, S. Lario^a, J. Luelmo^d y F. Segura^a

^aServicio de Enfermedades Infecciosas, ^bServicio de Pediatría, ^cLaboratorio de Microbiología. UDIAT, ^dServicio de Dermatología, Corporació Sanitària Parc Taulí. Institut Universitari (UAB). Sabadell. Barcelona.

Introducción: En 1996, Lakos describe una nueva rickettsiosis del grupo de las fiebres manchadas denominada Tick-Borne Lymphadenopathy (TIBOLA) causada por *R. slovaca*. **Objetivo:** Describir los aspectos epidemiológicos y clínicos más relevantes de una serie de pacientes con TIBOLA diagnosticados en Catalunya.

Pacientes y métodos: Se incluyeron en el estudio a todos aquellos pacientes que fueron atendidos en nuestro hospital y que presentaban la clínica característica de la enfermedad TIBOLA, que consiste en la presencia de una lesión de inoculación tras la picadura de una garrapata con linfadenopatías regionales. El estudio se llevó a cabo en la Corporació Parc Taulí de Sabadell. El periodo de inclusión fue desde Abril del 2000 hasta Abril de 2006. Se practicaron serologías para *Rickettsia conorii*, *R. slovaca* y *Borrelia burgdorferi*. Se investigó la posible presencia de Rickettsias mediante la técnica de PCR/RFLP y LATE-PCR en sangre, biopsia cutánea y garrapatas procedentes de los pacientes.

Resultados: 36 pacientes cumplieron los criterios de inclusión. 28 fueron niños. En la mayor parte de los casos la infección se produjo entre octubre y abril. En 34 pacientes la picadura de la garrapata se produjo en el cuero cabelludo. Se observó una escara necrótica rodeada por un halo eritematoso perilesional en 29 casos. Todos los pacientes presentaban linfadenopatías regionales dolorosas. La serología para *R. conorii* fue positiva en 8 ocasiones y la de *R. slovaca* en 2. La PCR en sangre, en las muestras de biopsia y en tejido necrótico resultó negativa.

En 7 pacientes se pudo estudiar la garrapata transmisora de la infección que se identificó como *Dermacentor marginatus*.

En 4 de ellas se identificaron *R. slovaca* por técnica de PCR/RFLP y/o DNA secuenciación.

33 pacientes recibieron tratamiento antibiótico. La evolución fue favorable en todos los casos. Se observó una alopecia residual en 2 pacientes.

Conclusión: TIBOLA está presente en Catalunya. Posee unas manifestaciones clínicas y epidemiológicas muy bien definidas aunque con dificultades en el diagnóstico etiológico.

Estudio financiado por la beca FIS 060536 y por REIPI RD06/008.

309

UNA PROTEÍNA DE 33 KDA DE LA MEMBRANA EXTERNA (OMP) DE *ACINETOBACTER BAUMANNII*, IMPLICADA EN LA RESISTENCIA A IMPENEM, INDUCE APOPTOSIS DE CÉLULAS EPITELIALES HUMANAS

E. Fernández-Moreira^{*1}, M. Tomás¹, R. Villanueva¹, M. Carvajal² y G. Bou¹

¹Servicio de Microbiología, Hospital Juan Canalejo. A Coruña. CEBAS-CSIC. Murcia.

Introducción: Se aisló en nuestro hospital una cepa multirresistente de *A. baumannii* (JC10-01), la cual fue resistente a carbapenemes debido a la ausencia de una OMP de 33 kDa. Los antibióticos carbapenémicos se usan de forma rutinaria para tratar infecciones causadas por *A. baumannii* multirresistentes. El objetivo fue conocer si esta OMP, también tiene otro papel en la interacción de *A. baumannii* con células epiteliales humanas.

Métodos: Purificación proteína OMP: HisTrapTM-HP (Amersham), Mono-Q-FF (Amersham) más una filtración en gel HiPrepTM 16/60 SephacrylTM TM-S-100 (Pharmacia). Ensayo de actividad OMP: hinchazón de oocitos de *Xenopus*. Microscopía de fluorescencia: DAPI (Santa Cruz); Annexin-V-Fluos (Roche); JC-1 Mitochondrial Potential Sensor (Molecular Probes) and FITC-Phalloidin (Molecular Probes). Citometría de flujo: APO-BRDUTM (BD). Western-blot (WB), anticuerpos anticaspasa-3, -9 (BD) y -8 (SantaCruz). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Resultados: La proteína OMP se añadió a un cultivo de células Hep-2, a una conc. final de 8 ug/ml e incubada durante 4 y 12 horas en todos los experimentos. Los efectos apoptóticos, se revelaron mediante microscopía de fluorescencia

% células apoptóticas

	4 Hrs		12 Hrs	
OMP	-	+	-	+
DAPI	4 ± 2	80 ± 4	5 ± 3	93 ± 3
Annexin-V	5 ± 3	72 ± 7	7 ± 3	90 ± 2
JC-1	3 ± 1	75 ± 6	6 ± 3	90 ± 1
FITC-Phalloidin	0	93 ± 4	2 ± 1	98 ± 2

Después de estimular células Hep-2 con la proteína OMP durante 12 hr, las células se analizaron mediante FACS. Control negativo, OMP incubada con un anticuerpo policlonal contra la misma (Ab)

	+ control	- control	OMP	OMP + Ab
% Células apoptóticas	54,5	5,9	37,6 ± 16	1,4 ± 1

Los experimentos con oocitos de *Xenopus* mostraron su papel en el paso de imipenem y agua al interior bacteriano. Análisis de activación de caspasas por WB muestran activación de caspasas 3, 8 y 9; 12 horas después de ser estimuladas células Hep-2 con la proteína OMP

Conclusiones: Nuestros resultados demuestran que la proteína OMP de 33 kDa de *A. baumannii* induce apoptosis en células epiteliales e interviene en el paso de agua al interior bacteriano

310

ENFERMEDAD DE CHAGAS AGUDA EN UN RECEPTOR ESPAÑOL DE TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSEA

Y. Faez Herrera¹, S. Santamaría Fernández², P. Martín Rico³, I. Pérez de Pedro², M.A. Cuesta Casas⁴, M.I. Muñoz Pérez⁴, I. Vidales Mancha⁴, A.I. Heiniger Mazo⁴ y J. de Dios Colmenero Castillo³

¹Sección de Microbiología, ²Servicio de Medicina Interna,

³Servicio de Enfermedades Infecciosas, ⁴Servicio de Hematología, Hospital Regional Universitario Carlos Haya

Objetivo: Comunicamos un caso reciente de enfermedad de Chagas aguda postransfusional en un paciente español receptor de un trasplante de médula ósea.

La enfermedad de Chagas es un problema público de gran magnitud en áreas endémicas de Sudamérica. Los inmigrantes no tratados, procedentes de zonas endémicas son una fuente potencial de infección a través de hemoderivados, donaciones de órganos y por transmisión vertical. La enfermedad de Chagas aguda en los pacientes inmunodeprimidos puede ser fatal a menos que sea reconocida y tratada precozmente

Metodología: *Caso clínico:* Paciente de 33 años que recibe un trasplante alogénico de médula ósea por una aplasia medular diagnosticada 2 meses antes del procedimiento del trasplante. Había recibido varias transfusiones de concentrados de hematíes y plaquetas antes y después del TPH. En el 9º día tras trasplante comenzó con fiebre en picos, visión borrosa, edema facial y rash generalizado. Todos los estudios microbiológicos y radiológicos fueron negativos. La fiebre persistió a pesar de tratamiento antibiótico y antifúngico empírico. El edema y eritema se fue haciendo generalizado por lo que se realizó una biopsia cutánea en la que se observaron amastigotes de *Trypanosoma cruzi*. En microscopia directa de gota fresca se objetivó tripomastigotes móviles. Realizamos PCR de *Trypanosoma cruzi* con resultado positivo en sangre, piel, médula ósea y orina, aunque con serología negativa.

Se inició tratamiento con benzonidazol 300 mg/d, con resolución de la fiebre a los 7 días y la parasitemia a los 10 días. La PCR se negativizó al mes. No aparecieron efectos secundarios. Ni el paciente ni el donante habían visitado zonas endémicas. 2 meses antes del trasplante el paciente había recibido plaquetas de donante boliviano asintomático, con serología y PCR positiva a *Trypanosoma cruzi*. En el estudio epidemiológico se detectó otro caso transfusional que fue tratado con éxito.

Conclusiones: En nuestro tiempo de intensos flujos migratorios el Chagas agudo transfusional debe considerarse en los pacientes inmunodeprimidos con fiebre persistente.

La clínica más llamativa fue el eritema y edema palpebral y facial. En áreas no endémicas de Chagas se debe acelerar la implementación del protocolo obligatorio existente de screening en donantes de sangre procedentes de zona endémica, así como en donantes y receptores de órganos y en embarazadas, para evitar la transmisión del parásito

311

MENINGITIS INFECCIOSAS EN PERSONAS MAYORES DE 60 AÑOS

E. Arroyo, A. Vera, FJ Rodríguez Vidigal y A. Muñoz-Sanz
Unidad de Patología Infecciosa. Hospital Universitario Infanta Cristina. Servicio Extremaduro de Salud. Universidad de Extremadura. Badajoz

Introducción y objetivo: El aumento de la esperanza de vida en la población general y las diferentes etiologías de las meningitis infecciosas (MI) según la edad, son razones que justifican el estudio de las características de las MI en personas mayores.

Material y métodos: Estudio retrospectivo de 50 casos de meningitis infecciosa en personas mayores de 60 años (el 68% fueron varones, de edad media 71,2 ± 7,1 años), atendidos en una Unidad de Patología Infecciosa (enero 1990-junio 2007). Se analizaron datos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos, terapéuticos y evolutivos.

Resultados: La edad media fue mayor durante el período 2000-2007 que antes del 2000: 72,2 ± 6,5 años frente a 69 ± 5,9 (p = 0,05). Hubo predominio estacional en otoño-invierno (62%) con estancia media de 17,8 ± 15,6 días. Trece pacientes necesitaron asistencia en UCI. Presentaban patología crónica el 42% (30% diabetes mellitus, 14% tratamiento inmunosupresor). Síntomas más frecuentes: fiebre (94%) y deterioro de conciencia (82%). No existían signos meníngeos en el 32%. Diagnóstico clínico-liquoral: meningitis bacteriana 74%, vírica 20% y tuberculosa 6%. Se logró diagnóstico microbiológico sólo en el 40% (LCR 32%, hemocultivos 14%): *S. pneumoniae* 20%, *Streptococcus* sp. 6%, *Staphylococcus* sp. 6%, bacilos gramnegativos 2%, *Brucella* sp. 2% y *L. monocytogenes* 2%. Hubo alteraciones en las pruebas de imagen en el 11,4%. El 92% recibió antimicrobianos (sólo en 18% se incluyó ampicilina) y al 23% se le asociaron glucocorticoides. La tasa de letalidad fue sólo del 6%.

Conclusiones: 1) La edad media de los pacientes con meningitis infecciosa está aumentando. 2) En los mayores de 60 años, la meningitis infecciosa presenta unas características particulares. 3) En nuestro medio, la proporción de diagnósticos microbiológicos es discreta (40%). 4) La mortalidad global es baja.

312

ESTUDIO PRELIMINAR DE LA RESPUESTA HUMORAL EN POBLACIÓN GENERAL Y PERSONAS PICADAS POR GARRAPATAS FRENTE A *HYALOMMA LUSITANICUM*

C. Giménez, L. Lledó y M.I. Gegúndez

Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad de Alcalá.

Introducción: Se realizó un estudio preliminar sobre la respuesta humoral frente a antígenos totales de machos y hembras de *Hyalomma lusitanicum* (Ixodoidea: Ixodidae), garrapata de amplia distribución en las regiones del Sureste de España introducida por animales silvestres. Transmite el protozoo parásito apicomplexa *Theileria annulata*, causante de la theileriosis mediterránea en ganado. Dado que hay poca información sobre las infecciones en humanos por esta garrapata, se llevó a cabo este estudio.

Material y métodos: Se recolectaron de vegetación en primavera, 465 ejemplares adultos no alimentados y se separaron en machos y hembras. Se obtuvieron los antígenos totales, y se ensayaron frente a dos grupos de población humana procedentes de la provincia de Burgos: 97 muestras de suero procedentes de población general y 42 de personas que habían sufrido picadura de garrapatas. Se empleó ELISA no comercial, frente a IgG, IgM e IgE. Se consideraron positivos los resultados que obtenían una densidad óptica = DO+3%.

Resultados: En población general, ningún suero fue positivo frente a los antígenos de hembras de *H. lusitanicum* y solo uno resultó positivo frente a los antígenos del macho. Las 23 personas con picadura de garrapatas eran asintomáticas en el momento de obtener las muestras. Todos fueron picados por especies desconocidas, sin que hubiera relación entre mordedura y edad, profesión o lugar donde vivía el paciente. De estos, 12 fueron varones: 8,69% (0-10 años), 17,39% (11-59 años), 21,73% (60-97 años) y 11 mujeres, de las cuales 8,69% (0-10 años), 30,43% (11-59 años) y 4,34% (60-97 años). Se encontraron 4 sueros positivos frente a IgG, tanto cuando se emplearon Ag de machos como de hembras, aunque solo dos de ellos reaccionaron frente a machos y no frente a hembras. Frente a IgM, tres sueros resultaron positivos frente a Ag de la hembra, y uno solo resultó positivo frente a Ag del macho. Dos sueros mostraron una única respuesta frente a IgM. Frente a IgE no se obtuvo ninguna respuesta.

Conclusiones: Existe un comportamiento antigénico distinto en machos y hembras de *H. lusitancum*, con diferencias significativas entre los dos grupos de población estudiados frente a los diferentes antígenos. Dado que para cada enfermedad producida por la picadura de garrapatas puede haber uno o varios vectores, *H. lusitancum* puede estar implicado como vector susceptible de parasitar a humanos y de forma activa en la transmisión de patógenos.

P. I. CCG06-UAH/SAL-0684.

313

ANÁLISIS COMPARATIVO DE LAS TÉCNICAS DE AGLUTINACIÓN Y ELISA -LPS DE FRANCISELLA TULARENSIS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TULAREMIA HUMANA

J.I. Garrote, M. Arias, P. Brezmes, L. Pérez, B. Sánchez-Borge, P. Ballesteros, M.A. Rodríguez, C. Fernández, R. Flecha, P. Gutiérrez y A. Orduña

Unidad de Investigación. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Hospital Río Carrión. Palencia. Hospital Virgen de la Concha. Zamora.

Antecedentes: Diez años después de la primera epidemia de tularemia humana documentada en Castilla y León, aparece una nueva epidemia de tularemia cuya incidencia supera ampliamente la registrada en 1997. La persistencia de títulos elevados de anticuerpos frente a *Francisella tularensis* durante años plantea problemas diagnósticos importantes ya que la epidemia actual se presenta fundamentalmente como tularemia neumónica y tularemia tifoídica, al contrario de lo acontecido con la epidemia de 1997 en la que la mayoría de casos se presentaron como tularemia ulceroganglionar, de mas fácil diagnóstico clínico.

Material y métodos: Se han estudiado 110 muestras de sueros obtenidos de 110 pacientes de tularemia en el momento que acudieron a la consulta con sospecha clínica de tularemia (sueros iniciales). En todos los casos la confirmación clínica de caso de tularemia se realizó siguiendo los criterios del CDC. Como grupo control se utilizaron 88 sueros de donantes sanos sin historia previa conocida de tularemia. Para el diagnóstico de laboratorio se utilizaron las pruebas de microaglutinación en placa (MAT), seroaglutinación en tubo (SAT) y ELISA IgG, ELISA IgA, y ELISA IgM frente a lipopolisacárido de *Francisella tularensis* (LPS). El LPS fue obtenido a partir de la fase acuosa mediante la técnica de fenol caliente de Westphal. Fue purificado mediante tratamiento con DNasa, RNasa y proteinasa K.

El estudio de la eficiencia diagnóstica de las pruebas la llevamos a cabo mediante el cálculo de las Curvas de Rendimiento Diagnóstico (CRD o ROC), sensibilidad, especificidad y LR+ y LR-.

Resultados: Con la prueba de MAT el área bajo la curva fue de 0,967 (IC 95% 0,930-1,004) La mejor relación sensibilidad-especificidad fue la calculada para la dilución 1/30 (sensibilidad 0,852, especificidad 1,00). En el caso de la prueba de SAT, el área bajo la curva fue de 0,926 (IC 95%, 0,872-0,981) y la mejor relación sensibilidad-especificidad fue la obtenida con la dilución 1/50 (0,836 y 1,00 respectivamente). Con la prueba de ELISA IgG LPS el área bajo la curva fue de 0,996 (IC 95%, 0,990-1,003); con la prueba de ELISA IgA LPS el área bajo la curva fue de 1,000 (IC 95%, 1,000 – 1,000) y con la prueba de ELISA IgM LPS el área bajo la curva fue de 0,996 (IC 95% 0,988-1,004). Utilizando los valores óptimos calculados en las CRD, la mayor sensibilidad correspondió a la prueba de ELISA IgA-LPS (100%), seguida de las pruebas de ELISA IgG-LPS e IgM LPS (ambas 98,3%), MAT (93,4%) siendo la menos sensible la SAT (85,2%). En relación con la especificidad todas las pruebas presentaron una especificidad del 100% con excepción de la prueba de ELISA IgG que presentó una especificidad del 93,2%.

Conclusiones: Nuestros resultados muestran que la prueba que presente un peor comportamiento diagnóstico es la SAT. Las pruebas ELISA presentan una mejor relación sensibilidad-especificidad, si bien es la prueba MAT la que resulta mas fácil de realizar y presenta un menor coste.

314

NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA (MEC IV): DESCRIPCIÓN DOS CASOS EN UN MISMO NÚCLEO FAMILIAR

J.R. Paño-Pardo¹, A. Rico¹, R. Gomez², A. García-Perea², F. Aracil³, J.M. Fraile⁴, A. Martínez-Verdascos⁵ y J. Mingorance²

¹Unidad de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, ²Servicio de Microbiología y Parasitología, ³Servicio de Pediatría, ⁴Servicio de Medicina Interna, ⁵Servicio de Neumología, Hospital Universitario La Paz.

Objetivo: Describir clínica, microbiológica y epidemiológica-mente los casos de dos pacientes pertenecientes a un mismo núcleo familiar con neumonía adquirida en la comunidad (NAC) por *Staphylococcus aureus* (SA) resistente a meticilina (mec IV).

Pacientes, material y métodos: Descripción de dos casos. Identificación y sensibilidades de los aislados mediante técnicas estándar. Extracción del ADN genómico de los aislados mediante UltraClean Microbial DNA Isolation Kit (MoBio). Detección del gen de la leucocidina de Panton-Valentine (LPV) mediante PCR estándar. Identificación del cassette cromosómico SCCmec por PCR multiplex. Realización de encuesta epidemiológica y toma de muestras de los convivientes para cultivo.

Descripción: *Caso 1:* Mujer filipina de 39 a con antecedente remoto de asma que 3 meses antes había tenido parto eutócico. Ingresó en UCI por fiebre, tos y disnea de 24 h de evolución, con insuficiencia respiratoria e infiltrados alveolares bilaterales. Se inició tratamiento con ceftriaxona y claritromicina con progresión radiológica en las primeras 72 h. El 3º día se recuperó SA en hemocultivos (3/3). Era resistente a meticilina y sensible a quinolonas, eritromicina, clindamicina, cotrimoxazol y tetraciclinas. Se sustituyó entonces el tratamiento antibiótico por vancomicina A los 15 d del ingreso se sustituyó la vancomicina por linezolid vo. Los hemocultivos de control y el ETE fueron negativos. *Caso 2:* Lactante de 3 meses, hijo de la paciente anterior, que ingresó 6 d después que ella con fiebre de 24 h de evolución, irritabilidad y decaimiento comprobándose neumonía de LID. Presentaba dermatitis seborreica en cuero cabelludo. Inicialmente se trató con cefotaxima y vancomicina. A las 72 h, en relación con deterioro clínico se modificó régimen antibiótico (linezolid y meropenem) y se comprobó derrame pleural que fue aspirado, aislándose SA con el mismo patrón de sensibilidad. La fiebre persistió durante 9 d y en pruebas de imagen se comprobó la aparición de bullas. *Biología molecular:* Presencia del gen de la LPV y del SCCmec de tipo IV en los aislamientos de ambos pacientes. *Encuesta epidemiológica:* Consistente con hacinamiento. El cultivo de tomas de fosas nasales fue positivo para SARM en un conviviente del núcleo familiar.

Conclusiones: 1) El SA resistente a meticilina (mec IV; LPV+) es un microorganismo a considerar en NAC, sobre todo en formas graves. 2) Es conveniente valorar las circunstancias epidemiológicas de los convivientes cercanos.

315

PALUDISMO IMPORTADO EN LA REGIÓN DE MURCIA (1993-2006): ¿EXISTE SUBNOTIFICACIÓN?

R. García-Pina^{1,5}, A. García-Fulgueiras^{1,5}, J.P. Millet^{2,5}, J.A. Caylà^{2,5}, L.P. Sánchez Serrano^{3,5}, M.E. Rodríguez Valín^{3,5}, M. Oviedo^{4,5} y N. Cardeñosa^{4,5}

¹Consejería de Sanidad de la Región de Murcia. ²Agencia de Salud Pública de Barcelona. ³Centro Nacional de Epidemiología ISCIII. ⁴Departamento de Salud Pública de Cataluña. ⁵CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP).

Introducción: El paludismo está incluido en la lista de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) desde princi-

prios del siglo XX, y actualmente está sujeto a normativa (RD 2210, 28 de Dic. de 1995), que unificó criterios para la vigilancia. Los casos nuevos deben ser notificados por los médicos al Sistema de Información de las EDO (SISEDO). Al igual que otras CCAA, el SISEDO cuenta con cierto grado de subnotificación, no cuantificado.

Objetivo: Conocer el grado de infradeclaración del paludismo, describir la situación epidemiológica y conocer los factores asociados a paludismo grave en la Región de Murcia (RM).

Métodos: Revisión de los ingresos por paludismo entre residentes en la RM en el periodo 1993-2006 mediante consulta al CMBD (Registro Regional de Altas Hospitalarias), seleccionando los ingresos con diagnóstico principal al alta "paludismo" (código CIE 9-MC 0,84). Se revisaron las historias clínicas (HC) para excluir reactivaciones y fallos del tratamiento. Análisis: t-student para comparación de variables continuas, Z y χ^2 para categóricas y regresión logística (univariada y multivariada) para determinar el riesgo de paludismo grave.

Resultados: En el periodo 93-06 se registraron 53 casos en SISEDO y 88 en CMBD. Ambos sistemas registraron 92 casos (incluyendo 15 reactivaciones y 16 fallos de tratamiento), con un total de 61 casos incidentes: 22 registrados en registros en EDO y CMBD, 17 sólo en EDO y 22 sólo en CMBD (36% de subnotificación en SISEDO). Teniendo en cuenta el total de carga de enfermedad (incluyendo reactivaciones y fallos del tratamiento, n = 92), la incidencia de paludismo pasó de 0,31/10⁵ en el periodo 93-00 al 0,85/10⁵ en el periodo 01-06 (p < 0,0001). El 77,2% de los casos fueron hombres (media de edad 34), siendo las mujeres 12,1 años más jóvenes (p < 0,0001). En 93-00 predominaron los españoles (54%) y en el 01-06 los extranjeros (79,7%; p < 0,0001). La procedencia más frecuente fue la africana (Guinea Ecuatorial y Nigeria) seguida de la latinoamericana (Ecuador). Del total de casos, el 40,2% eran inmigrantes recién llegados y el 55,4% había viajado a zonas endémicas (incluyendo turismo, trabajo ó visita a familiares). De estos últimos (n = 51), no habían tomado profilaxis (QP) el 40,9% de los españoles (n = 22) y ninguno de los 23 extranjeros (p < 0,0001). De los confirmados (n = 78) el 50% fueron por *P. falciparum* (35,9% no constó la especie). El 9,8% presentaron paludismo grave (n = 9), 4 de ellos estaban causados por *P. falciparum*. El riesgo de padecer paludismo según diferentes factores no resulta estadísticamente significativo debido al pequeño número de casos graves registrados.

Conclusiones: Teniendo en cuenta los ingresos por paludismo, esta enfermedad está subnotificada en un 36%. Una escasa proporción de personas residentes en la RM que viajaron a zonas endémicas de paludismo tomaron QP, siendo la situación aún peor en la población extranjera que regresa de su país. Este es un factor de riesgo conocido para desarrollar formas graves de la enfermedad que pueden llevar incluso a la muerte.

316

ABSCESO HEPÁTICO POR *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* MAGA+. ¿PRIMEROS CASOS EN ESPAÑA?

Y. Meije¹, A. García-Reyne¹, C. Gómez², M. Lizasoain¹, R. San Juan,¹ J. R. Otero² y F. Chaves²

¹Unidad de Enfermedades infecciosas y ²Servicio de Microbiología, Hospital Universitario 12 de Octubre

Introducción: *Klebsiella pneumoniae* (Kp) serotipo k1 portadora del gen magA, se describió por primera vez en 1981 y se caracteriza por un fenotipo de hiperviscosidad que dificulta la fagocitosis por el sistema inmunológico del huésped y le confiere la capacidad de producir abscesos hepáticos primarios y focos sépticos secundarios (endoftalmitis, embolismos sépticos pulmonares, meningitis, etc). Hasta ahora se han descrito alrededor de 900 casos, todos ellos en el Sudeste Asiático y Taiwán. En el último año han aparecido los primeros casos en Norte América y Europa.

Objetivo: Descripción clínico-microbiológica de los tres primeros casos documentados en España de absceso hepático por Kp-magA.

Material y método: Descripción clínica de los casos. Para la detección del gen magA se amplificó por PCR un fragmento de 540 bases con los primers magA-F (5'-CGC-CGC-AAA-TAC-GAG-AAGTG-3') and magA-R (5'-GCA-ATCGAA-GTG-AAG-AGT-GC-3'). El producto amplificado fue secuenciado para confirmación mediante el BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit y un ABI Prism 3100 Avant genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA). La secuencia del primer aislamiento (nº acceso GenBank DQ677561) se comparó con todas las secuencias bacterianas disponibles de la base de datos GenBank mediante el programa BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/BLAST.cgi>).

Resultados: *Caso 1:* Varón de 61 años de nacionalidad española y sin antecedentes de viajes al extranjero con absceso hepático y bacteriemia por Kp, sin otros focos sépticos. *Caso 2:* Varón de 27 años natural de Mali y que vive en España desde hace 5 años. Diagnosticado de absceso hepático, bacteriemia y cistitis enfisematosa por Kp identificada en hemocultivos y pus del absceso. *Caso 3:* Varón de 43 años de origen chino, diabético, que lleva 18 meses en España. Ingresó con absceso hepático, bacteriemia y embolismos sépticos pulmonares, cultivándose Kp en hemocultivos y pus del absceso. Todos los aislamientos contenían el gen magA y el correspondiente al caso 1 presentaba un 100% de similitud en las secuencias del gen magA de Kp (nº acceso GenBank AY762939, AB198423, AB117611 y AB085741).

Conclusiones: Ante un paciente con absceso hepático por Kp, se debería sospechar la presencia de este patógeno emergente, incluso aunque no proceda de un área endémica, y buscar activamente focos sépticos extrahepáticos. La identificación del serotipo K1 y/o la detección del gen magA mediante PCR puede ser útil, desde el punto de vista clínico y epidemiológico, en la identificación de estos casos.

317

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS FRENTE A RICKETTSIAS EN PACIENTES CON HIPERTRANSAMINEMIA

L. Lledó¹, J. Sánchez¹, R. González^{1,2}, M.I. Gegúndez¹, J.V. Saz¹ y M. Beltrán^{1,2}

¹Dpto. Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá. ²Servicio de Microbiología, Hospital Príncipe de Asturias.

Objetivos: Las rickettsiosis son infecciones conocidas de antiguo pero en los últimos años están emergiendo nuevas especies que ocasionan enfermedad en humanos y otras están aumentando su incidencia. En estos cuadros, es muy frecuente que se asocie diversos grados de disfunción hepática, que en aisladas ocasiones puede ser severa. En este estudio nos planteamos investigar la seroprevalencia frente a rickettsias de ambos grupos (exantemáticas y tíficas) en pacientes con elevación de las transaminasas de etiología desconocida, comparándola con un grupo control.

Material y métodos: Se estudiaron sueros de 143 pacientes con hipertransaminemia (101 hombres y 42 mujeres), y de 143 personas de población general con valores normales de transaminasas (con la misma distribución por sexo que en el grupo anterior). Todos los sujetos del estudio provenían del área de salud 3 de la Comunidad de Madrid.

La técnica empleada para la detección de anticuerpos específicos de tipo Ig G frente a rickettsias del grupo tífus y del grupo de las fiebres exantemáticas fue la inmunofluorescencia indirecta (utilizando como antígeno células VERO infectadas con *Rickettsia typhi* y *Rickettsia conorii* respectivamente). Se consideró positivo un título igual o superior a 1/80.

Resultados: En el grupo de los pacientes con hipertransaminemia se detectaron 16 con anticuerpos frente a *R. conorii*, lo que representa una prevalencia del 11,2% (4,8% en mujeres y 14% en hombres; edades entre 25 y 81 años), y frente a *R. typhi* 10 (7% de prevalencia; 9,5% en mujeres y 5,9% en hombres, con edades comprendidas entre 1-68 años). Los títulos oscilaron entre 1/80 y 1/320 para *R. conorii* y entre 1/80 y 1/1280 para *R. typhi*.

7 sujetos con anticuerpos específicos se hallaron en el grupo perteneciente a población general frente a *R. conorii* (4,9% de prevalencia—7,1% en mujeres, 4% en hombres; edades comprendidas entre los 32-81 años), con títulos entre 1/80 y 1/320. Frente a *R. typhi* se detectaron 4 sueros con anticuerpos (2,8% de prevalencia—4,7% en mujeres, 2% en hombres; de 19-86 años), con títulos entre 1/80 y 1/320.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la prevalencia frente a *R. conorii* de los dos grupos estudiados ($p < 0,05$; $\chi^2 = 3,84$), pero no hubo diferencias significativas para la prevalencia de *R. typhi* entre los dos grupos, ni por género ni edad en cada uno de ellos.

Conclusiones: Se confirma la presencia de infección por rickettsias en las poblaciones estudiadas, pero con cifras de prevalencia significativamente superiores en el grupo de pacientes con hipertransaminemia para el grupo de las fiebres exantemáticas.

cho. A la semana del segundo ingreso recibe el alta. En el suero de fase convaleciente se detectan anticuerpos IgG e IgM anti-VTOS (no se dispone de suero de fase aguda).

Conclusiones: VTOS podría jugar un papel importante en complicaciones y procesos neurológicos graves, probablemente relacionado con factores predisponentes en los pacientes afectados.

318

DETECCIÓN DE VIRUS TOSCANA EN LCR DE PACIENTES CON MENINGOENCEFALITIS

S. Sanbonmatsu², M. Pérez-Ruiz¹, J. Palomares²
y J.M. Navarro-Marí¹

¹Servicio de Microbiología, H.U. Virgen de las Nieves. ²Servicio de Medicina Interna, ³Laboratorio de Microbiología, ^{2,3} Hospital Santa Ana. Motril. Granada.

El virus Toscana (VTOS) constituye la segunda causa de meningitis linfocitaria en nuestro medio, precedido por enterovirus. Al igual que éste, el cuadro clínico que produce habitualmente es autolimitado y de escasa gravedad. Existen pocos casos descritos de infección neurológica grave por VTOS. La mejor técnica diagnóstica en muestra de LCR es la PCR. Sin embargo, no es un virus que se investigue de forma rutinaria, entre otros motivos, porque no existen técnicas moleculares comerciales. En este trabajo describimos dos casos graves de meningoencefalitis por VTOS. La metodología que se empleó para la detección de VTOS fue el cultivo en células Vero y RT-PCR de la muestra de LCR. CASO 1: infección neurológica persistente por VTOS en varón, 45 años, procedente de zona rural de Granada, esplenectomizado, trasplantado renal y en tratamiento crónico con inmunosupresores, que ingresó en el hospital con síndrome febril y síndrome confusional agudo. En el LCR (280 linfocitos/mm³) se detectó VTOS mediante cultivo en células Vero y RT-PCR. A los 12 días del ingreso, presentó una crisis tónico-clónica, deterioro cognitivo, cuadro ictal hemisférico izquierdo con disfasia, disartria y paresia. Un mes después se obtuvo nueva muestra de LCR en la que vuelve a detectarse VTOS. En el suero de fase aguda no se detectaron anticuerpos anti-VTOS. El estudio en sueros de fase convaleciente, a los 10 días y 5 meses, los resultados fueron: IgM positiva-IgG negativa e IgM positiva-IgG positiva débil, respectivamente. Se confirmó la especificidad de la seroconversión mediante neutralización de ECP en cultivo celular. El paciente recibe el alta a los dos meses. CASO 2: varón de 54 años, procedente de la costa de Granada, que ingresa por síndrome confusional agudo y fiebre. Antecedentes: tratamiento con corticoides por enfermedad de Crohn. En la muestra de LCR tomada al ingreso (110 linfocitos/mm³) se detecta VTOS. Recibe tratamiento antibiótico y antiviral durante 21 días, tras lo cual se le da el alta. Al mes reingresa por cuadro ictal de mareo, agitación, disartria y dificultad de movilización de miembro superior dere-