

X Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC)

Sevilla, 17-20 de marzo de 2002

Sesión 1 Infecciones respiratorias

001

NEUMONÍA EXTRAHOSPITALARIA POR *LEGIONELLA PNEUMOPHILA*. SERIE DE 97 CASOS ENTRE 1997-2001

J. Benito, M. Montejó, R. Zalacain, L. López, J. Oñate,
K. Aguirrebengoa, L. Cancelo, J. Fernández, L. López-Roldán
y J.R. Iruretagoyena
H. de Cruces. Barakaldo. Vizcaya.

Objetivo: Describir las características de los enfermos ingresados por neumonía comunitaria por *Legionella pneumophila* serogrupo I (NLP) en nuestro hospital en los últimos cinco años.

Método: Estudio descriptivo retrospectivo de los pacientes con NLP ingresados desde 1/97 al 9/01, cuyo criterio diagnóstico fue la positividad de antígeno de *Legionella* en orina por EIA, con radiología compatible.

Resultados: Ingresaron 87 hombres y 10 mujeres con una edad media de 53 años. El 13,4% fueron englobados en diferentes brotes y 7 enfermos permanecieron la semana anterior al ingreso fuera de Vizcaya. El 77,3% eran fumadores, y el 49,5% tenían enfermedad subyacente. Previo al ingreso el 42,3% había recibido antibióticos. La duración media de los síntomas fue de 6 días, siendo la fiebre (93,8%), tos (69%), disnea (48,5%), expectoración (41,2%), dolor torácico (36%), mialgias (26,8%), y diarrea (25,8%), los más comunes. La frecuencia respiratoria media fue de 23 respiraciones por minuto. La media de leucocitos fue de 12100 l/mm³, la de urea 53,7 mg/dl y la PaO₂ 66,3 mmHg. La RX de tórax mostró infiltrado alveolar en todos los casos, con afectación de 2 o más lóbulos en el 37%, afectación bilateral en el 29% y derrame pleural en el 13,4%. Estudio serológico con 2 muestras se realizó en 42 casos, de los cuales en el 43% hubo seroconversión. Se administraron macrólidos en 88 casos, en 59 de los cuales asociados a otro antibiótico, preferentemente rifampicina, y levofloxacino en el resto. Precizaron ingreso en UCI 35 pacientes (37,1%): 22 requirieron VM, 19 presentaron fracaso renal precisando 9 de ellos hemodiálisis, y 15 shock séptico. Falleció el 12,5% del total, y el 34% de los ingresados en UCI.

Conclusiones: Aumento notable de casos diagnosticados de NLP desde el establecimiento del antígeno en orina. Afecta principalmente a varones fumadores. La NLP en nuestro medio conlleva alta mortalidad.

002

TRATAMIENTO CON LEVOFLOXACINO DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD CAUSADA POR *LEGIONELLA SPP*

J. Pérez-Molina, M. Sánchez-Conde, C. Barros*, E. Condés*,
L. Moreno**, P. Bachiller*** y E. Bouza
Hospital Gregorio Marañón, General de Móstoles*,
Ramón y Cajal** y Río Hortega***.

Introducción y objetivos: La buena reputación de las quinolonas en el tratamiento de la neumonía por *Legionella spp* se basa fundamentalmente en estudios *in vitro* y en modelos experimentales. La información clínica es escasa y en este sentido hemos evaluado la eficacia y seguridad de levofloxacino (LEVO) en el tratamiento de la neumonía adquirida en la comunidad (NAC) causada por *Legionella spp*.

Métodos: De enero/1999-octubre/2000 hemos estudiado retrospectivamente 22 pacientes procedentes de 4 centros españoles que recibieron LEVO para el tratamiento de una NAC causada por *Legionella spp*. Los criterios diagnósticos han sido: clínicos, radiológicos y al menos uno microbiológico (serología, antigenuria, inmunofluorescencia o cultivo).

Resultados: La gravedad de los 22 enfermos según la escala de Fine fue: clase I 10 pacientes, Clase II 3 pacientes, clase III 6 pacientes y clase IV 3 pacientes. Tres de los pacientes eran inmunodeprimidos (2 VIH+ y un trasplantado cardíaco). De los 22 enfermos, 15 recibieron LEVO como único tratamiento antibiótico eficaz, todos ellos evolucionaron satisfactoriamente. En los 7 pacientes restantes se administró LEVO antes, concomitantemente o tras la administración de otro tratamiento eficaz frente a *Legionella spp* (fundamentalmente Macrólidos); en estos pacientes la evolución también fue favorable. En ningún caso se presentaron efectos adversos ni intolerancia frente a LEVO.

Conclusiones: En nuestro estudio LEVO resultó eficaz en el tratamiento de NAC causada por *Legionella spp*. Además no se demostraron diferencias entre los pacientes tratados con dos fármacos frente a los tratados exclusivamente con LEVO. Otras ventajas del tratamiento con este antibiótico son: posibilidad de administración secuencial precoz, buena tolerancia y comodidad en la posología.

003

ALTERACIONES ANALÍTICAS Y RADIOLÓGICAS ASOCIADAS A LA NEUMONÍA POR *LEGIONELLA PNEUMOPHILA*

R. Blázquez, I. Carpena, A. Menasalvas, F. J. Espinosa, R. Cesteros, F. Herrero y M. Segovia
Unidad de Enf. Infecciosas. Hospital J.M. Morales Meseguer. Murcia.

Objetivo: Describir las alteraciones analíticas y la forma de presentación radiológica de los pacientes con neumonía por *Legionella pneumophila* durante el brote epidémico.

Métodos: Se recogieron de forma prospectiva según el protocolo establecido las características epidemiológicas de los pacientes atendidos de neumonía por *L. pneumophila* en la Unidad de Enfermedades Infecciosas durante julio de 2001.

Resultados: De los 75 pacientes con diagnóstico de certeza de neumonía por *Legionella pneumophila* presentaron anemia 8 (10,6%), leucocitosis 44 (58,6%), hiponatremia 11 (14,6%) e insuficiencia renal 20 (26,6%). El 25% de los pacientes presentó insuficiencia respiratoria.

En lo que se refiere a la forma de presentación radiológica cabe destacar que en 3 pacientes la radiología inicial fue normal. El patrón radiológico predominante fue el alveolar (92%), 2 (2,6%) pacientes tuvieron un patrón intersticial y 1 (1,3%) mixto. La afectación fue unilateral en 60 pacientes (9 de ellos con afectación multilobar) y bilateral en 15 (20%). Sólo en 3 (4%) pacientes se objetivó derrame pleural. De los 30 pacientes con valoración radiológica precoz (<10 días), 8 (27%) presentaron empeoramiento. La duración de los síntomas en los pacientes con mayor afectación radiológica (multilobar o bilateral) no fue significativamente superior al resto de los pacientes.

Conclusión: Los pacientes con neumonía por *Legionella pneumophila* presentan en su mayoría una neumonía unilateral con patrón radiológico alveolar, pudiéndose encontrar un empeoramiento radiológico en la primera semana de evolución.

004

SIGNIFICADO DEL AISLAMIENTO DE CITOMEGALOVIRUS EN EL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON VIH Y PCP

J. García-Cañete, M. Górgolas, I. Gadea, J.J. Granizo, J. Flandes, A. Moneo y M.L. Fernández-Guerrero
Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

Objetivos: Aclarar la significación clínica y pronóstica del aislamiento de CMV en el LBA de pacientes con infección por VIH y PCP.

Métodos: Estudio retrospectivo de 130 casos de PCP documentada por microbiología en pacientes con VIH. Se utilizó para la identificación de CMV el método Shell-vial, en las muestras de LBA. Se obtuvieron datos epidemiológicos, clínicos, analíticos, radiológicos, terapéuticos y de evolución, realizándose análisis univariado y de regresión logística condicional.

Resultados: 41 (35,6%) de los pacientes tenían cultivo positivo para CMV en el LBA. La edad media de estos fue mayor respecto al grupo de pacientes que no tuvieron cultivo positivo para CMV (42 vs 35 años, $p < 0,005$), siendo las demás características epidemiológicas similares. La media de linfocitos CD4 fue equivalente en ambos grupos (75 vs 74 cel/ul). La presentación clínica, niveles de LDH, pO₂ arterial al diagnóstico y alteraciones radiológicas en los dos grupos, no mostró diferencias significativas. La proporción de pacientes tratados con cotrimoxazol y esteroides fue similar en los ambos grupos (100% en CMV+ vs 94,6% en CMV-; y 77,5% vs 71,6% respectivamente), sin embargo los pacientes CMV+ requirieron administración de cotrimoxazol intravenoso durante mas tiempo (10,6 vs 7,4 días, $p < 0,01$) debido a la persistencia de disnea y/o fiebre (11,5 vs 7,8 días, $p = 0,06$). La

tasa de mortalidad en el grupo CMV+ fue cuatro veces mayor (23% vs 6,8%, $p < 0,03$, OR = 4,01), sin embargo en el análisis de regresión logística la presencia de CMV en el LBA no fue significativamente asociado con un incremento de la mortalidad, asociándose esta a otras variables como la edad, niveles elevados de LDH en suero, hipoproteïnemia y co-infección bacteriana. Doce pacientes fueron tratados con ganciclovir, una media de 10 días (rango 3-21) siendo la mortalidad en este grupo similar.

Conclusión: El aislamiento de CMV en el LBA de pacientes VIH con PCP refleja una deteriorada situación clínica del paciente, no presentando peor pronóstico. No parecen beneficiarse estos pacientes de terapia específica.

005

RESPUESTA INFLAMATORIA EN LAS INFECCIONES PULMONARES DE LOS PACIENTES CON INFECCIÓN POR VIH-1

N. Benito, A. Moreno, X. Filella, J. González, T. Pumarola, J.M. Miró, M.E. Valls, M. Luna, A. Rañó, A. Torres y J.M. Gatell
Hospital Clínic. Barcelona.

Objetivo: Estudiar la correlación de diferentes citocinas y Proteína C Reactiva (PCR) con los principales grupos etiológicos de las infecciones respiratorias en los pacientes con infección por VIH-1 y evaluar su implicación en el pronóstico.

Pacientes y métodos: Estudio prospectivo de todos los pacientes con VIH ingresados consecutivamente por infecciones pulmonares en un Hospital Universitario desde abril de 1998 a mayo de 2001. A su ingreso y al 5º día se realizaron determinaciones plasmáticas de PCR y las siguientes citocinas: IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10 y TNF- α . Todos los pacientes se incluyeron en un protocolo de estudio dirigido al diagnóstico etiológico y evolución.

Resultados: Se analizaron 249 episodios en 220 pacientes. La edad media fue de 39 años (DE 10,9), 160 eran varones y 60 mujeres. Los principales grupos diagnósticos fueron: Neumonía bacteriana (NB) en 114 (59 por *S. pneumoniae*), neumonía por *P. carinii* (NPC) en 37 e infección por micobacterias (Mic) en 36. Fallecieron 24 pacientes de los 220 incluidos (6 por NPC, 4 por NB y 1 por Mic). Las medianas al ingreso fueron: PCR (VN < 0,8 mg/dl) de 10,2 en el grupo de NB, de 3,75 en el de NPC y de 5 en el de Mic ($p = 0,0001$). Valores de IL-8 (VN < 10 pg/ml) de 19 en el grupo de NB, de 3 en NPC y de 2,9 en Mic ($p = 0,045$). Valores de TNF- α (VN < 20 pg/ml) de 46,5, 44 y 75 respectivamente ($p = 0,029$). No hubo diferencias significativas en los valores de IL-1 β , IL-6 e IL-10 entre los tres grupos diagnósticos. Tampoco se correlacionaron con la etiología los valores de las citocinas estudiadas y PCR obtenidos al 5º día de evolución. Los pacientes que fallecieron presentaron valores superiores al ingreso de IL-6 (VN < 5 pg/ml) 95 vs 36 ($p = 0,014$), IL-10 (VN < 10 pg/ml) 22 vs 6 ($p = 0,01$) y TNF- α 70 vs 46 ($p = 0,041$). Al 5º día la IL-6 persistió elevada en los que fallecieron: 126,5 vs 24 ($p = 0,043$).

Conclusiones: La PCR e IL-8 al ingreso fueron superiores en las neumonías bacterianas y el TNF- α en las micobacteriosis. La mortalidad se correlacionó con valores elevados de IL-6, IL-10 y TNF- α al ingreso, y de IL-6 al 5º día.

006

CARACTERÍSTICAS DE LAS INFECCIONES POR VIRUS RESPIRATORIOS EN PACIENTES CON HEMOPATÍAS MALIGNAS

N. Rabella, E. Rámila, J.M. Muñoz, N. Margall, R. Martino, R. Labeaga, M. Herrero, J. Sierra y G. Prats
Hospital Santa Creu i Sant Pau. Barcelona.

Objetivo: Determinar las características de las infecciones causadas por virus respiratorios convencionales en pacientes con hemopatías malignas.

Métodos: Desde octubre de 1999 hasta mayo de 2001 se detectaron 157 episodios de infección respiratoria en 111 pacientes. Ciento cuarenta y ocho aspirados de moco nasofaríngeo y once lavados broncoalveolares se procesaron para estudio virológico. Los virus de la gripe A (VGA) y B, virus parainfluenza (VPI), virus respiratorio sincitial (VRS) y adenovirus (AdV) se detectaron por técnicas de inmunofluorescencia y de cultivo celular. Los enterovirus (EV) se aislaron por técnicas de cultivo celular.

Resultados: En 76 episodios se detectaron inicialmente uno o más virus respiratorios, 52 VGA, 6 EV, 5 VRS, 4 VPI 1, 2 VPI 3, 2 AdV, 2 VGA+VRS, 1 VGA+EV, 1 VGA+AdV, 1 VPI 3+AdV. En 131 casos las manifestaciones clínicas de los pacientes fueron del tracto respiratorio superior (TRS), en 12 del tracto respiratorio inferior (TRI) y en 14 de ambos. De los 131 episodios de infección del TRS, 12 progresaron a TRI. En total 38 pacientes presentaron afectación del TRI, catorce de ellos sufrieron una sobreinfección respiratoria, de las que siete fueron por otro virus respiratorio convencional (6 RSV, 1 VPI 3).

Seis pacientes fallecieron en relación con la infección respiratoria (4 VGA, 2 VPI 3).

En 54 casos se realizó un seguimiento virológico. En 16 casos de infección por VGA el virus persistió más de dos semanas y en cuatro de ellos se añadió un virus respiratorio sincitial.

Conclusiones: 1) El virus de la gripe A ha sido el virus respiratorio detectado con mayor frecuencia. 2) En 38 de los 157 episodios los pacientes presentaron afectación del tracto respiratorio inferior y de ellos 6 (16%) fallecieron. 3) De los cuatro pacientes con infección por virus parainfluenza 3, dos fallecieron a causa de la infección respiratoria. 4) Dieciséis pacientes eliminaron el virus de la gripe A durante más de dos semanas.

007

NEUMONÍAS ADQUIRIDAS EN LA COMUNIDAD EN UN HOSPITAL COMARCAL

E. Salguero, G. Pérez, F. Báñez, E. Gálvez, A. Arroyo, N. Moratalla, C. Fernández-Alcalá
Hospital Princesa de España. Jaén.

La Neumonía Adquirida en la Comunidad (NAC) es una enfermedad común en la práctica clínica diaria.

Objetivo: Estudiar las características de las NAC ingresadas en nuestro hospital durante 1 año.

Material y métodos: Se revisaron 69 historias, con diagnóstico de Neumonía al alta. Se analizaron edad, sexo, estancia media, factores de riesgo, datos clínicos, de laboratorio, radiológicos, microbiológico, tratamiento y evolución.

Resultados: 69 pacientes cumplían criterios de NAC, 79,9% hombres, edad media: $70,4 \pm 15,52$ años. Fumadores 27,5% y bebedores 17,4%, 39% cumplían criterios de EPOC, 27,5% eran diabéticos, ICC en 16% y 29% HTA. Un total de 94% tenían comorbilidad múltiple. Los síntomas más frecuentes fueron: Tos 79%, Fiebre 68%, Expectोरación 66,7%, Disnea 62%, seguidos de Dolor pleurítico 36%, Escalofríos 26% y Obnubilación 14,5%. Presentaban leucocitosis 80%, Hipoxemia moderada 52% y grave 17,4%. El patrón alveolar estaba presente en el 100% de los pacientes, siendo las localizaciones más frecuentes LII 33% y LID 30%, con derrame pleural 16%. Solo se hizo estudio microbiológico en 14 pacientes, con identificación del germen en el 7% de los casos (3 neumococo y 1 *S. epidermidis*). B-Lactámicos son los antibióticos más utilizados, Cefotaxima 70% seguido de Amoxicilina-Clavulánico en 17%, asociándose un macrólido en el 25% de los casos. La estancia media fue de 11,5 días y la evolución fue buena en 91% de los casos.

Conclusiones: La incidencia más elevada de NAC se observa en adultos varones > 70 años. La comorbilidad múltiple está presente en casi el 100% de los pacientes. El diagnósti-

co microbiológico se hace en un bajo porcentaje de casos, por lo que es preciso contar con pautas de diagnóstico y tratamiento empírico lo más exactos y claros posible.

008

NEUMONÍA COMUNITARIA: ARGUMENTOS PARA SU CONTROL

J. Sola¹, M. Echevarrieta², B. Bermejo³, R. Soriano¹, C. Irigoyen¹ y A. Adán¹

¹Enfermedades Infecciosas. ²Microbiología. ³Gestión de Calidad. Hospital de Navarra.

Objetivo: Describir las características clínicas, diagnóstico y evolución de las neumonías adquiridas en la comunidad (NAC) que ingresan el hospital.

Muestra y métodos: Estudio observacional descriptivo de los pacientes ingresados en el Servicio de Enfermedades Infecciosas por una NAC, en el período de junio 1999 a junio de 2001.

Resultados: Se han estudiado 154 pacientes, de los que 101 (65,5%) son varones. La edad media es de 59,8 años (DE = 19,8). Respecto a la patología de base, el 18,2% VIH, 24,7% EPOC, 18,8% con afectación cardíaca, 13,6% enfermedad cerebral y el 6,4% presentaban alguna neoplasia. El hemocultivo se realizó en 73 pacientes (47,4%), resultando 16 positivos (21,9%), siendo el 68,8% de éstos *S. pneumoniae*. El 54,5% de los pacientes con hemocultivo positivo a neumococo tenían antigenuria positiva. El cultivo de esputo se realizó en 29 pacientes (18,8%), siendo positivos únicamente 2 (0,6%), en uno para *S. pneumoniae* el hemocultivo fue negativo. De los 107 (69,4%) pacientes en los que se determinó antígeno específico para *S. pneumoniae* en orina, el resultado fue positivo en 21 (19,6%). De éstos, en 6 (28,6%) no se realizó hemocultivo, en 9 (42,9%) éste resultó negativo y en 6 (28,6%) fue positivo a *S. pneumoniae*. De las 121 determinaciones de antígeno de *L. pneumophila* en orina (78,6% de los pacientes), 4 (3,3%) resultaron positivas, en tres casos no se realizó hemocultivo y el cuarto el resultado del hemocultivo fue negativo. No se ha observado una asociación estadísticamente significativa entre el diagnóstico microbiológico y la presentación clínica. Respecto a la evolución clínica, 135 (87,7%) pacientes curaron y 9 (5,8%) fallecieron. No se ha observado asociación entre la edad y la evolución clínica. **Conclusiones:** Se constata un bajo porcentaje de hemocultivos solicitados. Utilidad y buena correlación para el diagnóstico a partir de la detección de antígenos en orina. Alta tasa de curaciones y falta de asociación entre la edad y la evolución clínica.

009

NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC): LIMITACIONES DE LA CLASIFICACIÓN DE FINE ET AL. CRITERIOS DE HOSPITALIZACIÓN EN CLASE III

E. Calbo, A. Ochoa, M. Rodríguez-Carballeira, C. Ferrer y J. Garau

Servicio de Medicina Interna, Hospital Mútua de Terrassa, Barcelona.

La aplicación de un índice pronóstico (IPS) en la NAC ha supuesto un avance para la identificación de pacientes tributarios de tratamiento ambulatorio (categorías I y II). Sin embargo no discrimina a los pacientes de la categoría III que requieren ingreso.

Objetivo: Determinar los pacientes de la categoría III que requieren ingreso hospitalario.

Método: A todos los casos de NAC en mayores de 18 años visitados en el Servicio de Urgencias se les aplicó el IPS. No se realizó ninguna maniobra para influir en las decisiones de

hospitalización, tratamiento o estudio etiológico. Se valoró el destino y la mortalidad hasta los 30 días.

Resultados: Se diagnosticaron 447 pacientes de NAC. El 61% era hombres, la edad media 69,4 años (rango, 18-98), 111 pacientes (23,8%) pertenecían a las categorías I y II, 80 (17,9%) a la III, 163 (36,5%) a la IV y 93 (20,8%) a la V. La mortalidad total fue de 27 (6,1%). De los 80 pacientes de la categoría III, 63 (79%) fueron ingresados, con una estancia media de 7,8 días; 16 (24%) presentaban comorbilidad y 39 (58%) tenían alguno de los marcadores de gravedad, físicos y/o analíticos, recogidos en el IPS. El 97,5% de este subgrupo de pacientes de la clase III con marcadores de gravedad ingresaron (OR: 14,7, CI 95% 1,8-121). Se produjo 1 (5,8%) exitus.

Conclusiones: Nuestros hallazgos indican que en los pacientes de la categoría III es la severidad de la neumonía el factor que predice el ingreso y no la comorbilidad.

010

PRONÓSTICO DE LA NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC): LIMITACIONES DEL ÍNDICE PRONÓSTICO DE FINE ET AL

E. Calbo, A. Ochoa, C. Ferrer, M. Rodríguez-Carballeira y J. Garau

Servicio de Medicina Interna. Hospital Mútua de Terrassa, Barcelona.

La aplicación en la NAC del índice pronóstico de severidad (IPS) propuesto por Fine et al. permite disponer de un marcador pronóstico de forma que el riesgo de mortalidad es creciente en las clases III, IV y V.

Objetivo: Determinar la mortalidad de los pacientes con NAC en función de su IPS y compararlo con la serie PORT de Fine et al.

Método: Se aplicó de forma prospectiva el IPS a todos los casos de NAC en mayores de 18 años visitados en el Servicio de Urgencias. No se realizó ninguna maniobra para influir en las decisiones de hospitalización, tratamiento o estudio etiológico. Se valoró la mortalidad en cada categoría y se comparó con la de PORT (Chi-cuadrado).

Resultados: Se diagnosticaron 447 episodios de NAC. El 61% eran hombres, la edad media 69,4 años (rango 18-98), 111 pacientes (23,8%) pertenecían a las categorías I y II, 80 (17,9%) a la III, 163 (36,5%) a la IV y 93 (20,8%) a la V. La mortalidad global de nuestra cohorte fue de 6,1% vs el 5,2% en la de PORT (OR 0,85; IC95% 0,54-1,34). Por clase de riesgo la mortalidad en nuestra muestra y en la de PORT fue: en clase III 1,3% vs 9,3% (OR:0,98; IC:0,1-9), en clase IV 5,5% vs 9,3% (OR:2; IC:0,9-4,5) y en la clase V 18,3% vs 27% (OR: 1,6; IC:0,8-3,6).

Conclusiones: Al igual que en la cohorte PORT, en nuestra serie el IPS identifica las NAC con mayor riesgo de mortalidad (clases IV y V). La menor mortalidad por clase observada en nuestra serie respecto a la de PORT, sugiere la necesidad de utilizar parámetros complementarios (APACHE y otros) para cuantificar con mayor precisión este riesgo.

011

PAPEL DE LA FIEBRE Q EN LA INFECCIÓN DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR EN UN CENTRO DE ATENCIÓN PRIMARIA

A.M. Rubio, M.L. Rodríguez, G. Azcarate, M. Imaz, M.J. Pérez y R. Cisterna

CAP Zumaquera y Servicio Microbiología del Hospital de Basurto.

Objetivo: Evaluar el papel de la fiebre Q en la infección del tracto respiratorio superior (ITRS) en adultos de la comunidad y compararla con el resto de patógenos.

Material y métodos: Diseño del estudio: estudio prospectivo descriptivo y sin intervención.

Ámbito del estudio: Centro de Salud Zumaquera de Vitoria, con una población adscrita de 19.868 personas.

Población a estudio: > 25 años con clínica de ITRS, atendidos en una consulta de atención primaria desde el 1-11-1999 hasta el 31-10-2000.

Muestras: se recogen un par de sueros, uno al inicio y otro 15 días después, y se analizan por fijación de complemento para virus de la gripe A y B, virus parainfluenza 1, 2, y 3, virus respiratorio sincitial (VRS), adenovirus y *Coxiella burnetii* (FQ). EIA para *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia* spp., e IFI para *Legionella*.

Resultados: Se evaluaron 155 pares de suero y 27 únicos sueros. De los 155, 60 (38,7%) fueron negativos, 30 (19,35%) títulos no significativos y 66 (42,58%) fueron diagnósticos: 38 gripe A, 2 gripe B, 7 parainfluenza 1, 2 parainfluenza 2, 2 parainfluenza 3, 5 FQ, 4 VRS, 1 adenovirus, 2 *Mycoplasma*, 1 *Chlamydia*, 1 *Legionella*. De los 27 únicos sueros 2 (7,4%) fueron diagnósticos a FQ. Las 7 FQ se distribuyeron en otoño y final del invierno. Excepto una mujer, todos los pacientes fueron varones. La edad media fue 49,8 años, 1 tenía asma y 2 EPOC. Tres cursaban con fiebre > 38 °C, escalofríos, cefalea y artromialgias, uno de ellos en época de gripe. Los síntomas más frecuentes fueron la cefalea y la tos, similar a otros gérmes. Ninguno presentó elevación de transaminasas. Los que tenían asma y EPOC se descompesaron y uno requirió ingreso.

Conclusiones: *Coxiella burnetii* es un germen a tener en cuenta en la infección del tracto respiratorio superior en población adulta en Álava, así como agente causante de descompensaciones de EPOC y asma.

012

NEUMONÍA ADQUIRIDA EN LA COMUNIDAD (NAC) EN LOS PACIENTES DE EDAD MUY AVANZADA

N. Fernández-Sabé, J. Carratalà, B. Rosón, A. Fernández-Agüera y F. Gudiol

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Bellvitge, Barcelona.

Objetivos: Analizar la frecuencia, etiología, características clínicas y evolución de la NAC en los pacientes de edad muy avanzada.

Métodos: Estudio observacional de una serie prospectiva de adultos no inmunodeprimidos hospitalizados por NAC (1995-2001). Comparación de los casos ocurridos en pacientes ≥ 80 años con el resto.

Resultados: Ingresaron por NAC 1.474 pacientes, de los cuales 305 (21%) tenían una edad ≥ 80 años. La edad media de los pacientes en los dos grupos fue de 85 y 60 años, respectivamente. Los pacientes ≥ 80 años fueron con mayor frecuencia mujeres (47 vs 26%), no fumadores (93 vs. 66%), no bebedores (95 vs 79%) y correspondían a las clases IV-V de Fine (85 vs 48%), (p<.001). La presencia de patología de base fue comparable en los dos grupos (79 vs 74%), siendo la cardiopatía, la EPOC y la demencia más frecuentes en el grupo ≥ 80 años. La neumonía neumocócica fue la etiología más prevalente en ambos grupos (23 vs 23%); la neumonía aspirativa fue más frecuente en los pacientes > 80 años (10 vs 5%; p<.001), mientras que la neumonía atípica (0,7 vs 4%) y la neumonía por *Legionella* (1 vs 8%) lo fueron en el resto (p<.001). La alteración del nivel de conciencia fue más común en el grupo de mayor edad (21 vs 11%), mientras que la cefalea y las artromialgias fueron más frecuentes en el resto (p<.001). La presentación clínica de la neumonía neumocócica fue comparable en ambos grupos de edad (síndrome de neumonía bacteriana clásica, 59 vs 60%). Los pacientes ≥ 80 años tuvieron más complicaciones durante el ingreso (32 vs 26%; p=.05) y una mayor mortalidad (19 vs 8%; p<.001).

Conclusiones: Un número importante de pacientes ingresados por NAC son de edad muy avanzada, aumentando el porcentaje de mujeres con la edad. La neumonía aspirativa es más frecuente en estos pacientes, siendo raras las neumonías atípicas y por *Legionella*. Las diferencias en la presentación clínica se corresponden más a las diferencias en la etiología que a la edad. La morbilidad y mortalidad en este grupo de edad es muy elevada.

013

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EVOLUTIVAS DE LA NEUMONÍA DE ADQUISICIÓN EN LA COMUNIDAD POR *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* (NHI)

B. Rosón, J. Carratalà, N. Fernández-Sabé, F. Tubau, J. Dorca y F. Gudiol

Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital de Bellvitge. Barcelona.

Objetivo: Describir las características demográficas, clínicas y evolutivas de una serie de pacientes hospitalizados por NHI. **Métodos:** Análisis observacional de una serie prospectiva de 1.474 pacientes adultos, no inmunodeprimidos, hospitalizados por neumonía de adquisición en la comunidad (1995-2001). Se consideró el diagnóstico de NHI como seguro cuando se aisló *H. influenzae* en muestras estériles y probable cuando se aisló en muestra de esputo purulenta con una tinción de Gram compatible.

Resultados: Las etiologías más frecuentes fueron *S. pneumoniae* 343 casos, *L. pneumophila* 100 y la neumonía aspirativa 89. Se documentaron 73 (5%) episodios de NHI, 15 con un diagnóstico de seguridad y 58 (79%) de probabilidad. Doce pacientes (16%) presentaron bacteriemia. Trece (18%) de las cepas fueron resistentes a ampicilina, todas por producción de betalactamasas. Los pacientes con NHI en comparación con los pacientes con neumonía neumocócica (NN), tenían significativamente ($P<.05$) una edad más avanzada (70 vs. 65 a), con mayor frecuencia tenían EPOC (45% vs. 27%), y tratamiento con corticoides sistémicos (18% vs. 7%). Se presentaron de forma significativa con un cuadro clínico más prolongado (5,0 vs. 3,3 días) y con menor frecuencia tenían inicio brusco (49% vs. 76%), escalofríos (45% vs. 62%), o dolor torácico (40% vs. 60%). La expectoración purulenta fue más común en la NHI (86% vs. 75%). No hubo diferencias significativas en la presentación clínica cuando consideramos únicamente los casos bacteriémicos. Los pacientes con NHI presentaron menos complicaciones durante el ingreso que los pacientes con NN (18% vs. 34%; $p<.01$). No hubo diferencias en la duración del tratamiento antibiótico (9 vs. 10 días), estancia hospitalaria (13 vs. 11 días) ni en la mortalidad a 30 días (4% vs. 10%).

Conclusiones: La NHI afecta principalmente a pacientes de edad avanzada con EPOC, en tratamiento corticoideo. La presentación clínica es menos aguda y manifiesta que la NN, excepto en casos bacteriémicos, asociándose a una menor morbilidad.

014

INFECCIÓN RESPIRATORIA POR *C. PSEUDODIPHTHERITICUM*

A. Sáez, E. Ugalde y C. García de la Fuente

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

Objetivo: Estudio microbiológico de 13 aislamientos de *C. pseudodiphtheriticum* y su implicación como patógeno en infecciones del tracto respiratorio.

Material y métodos: Se analizaron 13 muestras pertenecientes a 12 pacientes, (8 esputos, 2 BAS y 3 aspirados tra-

queales) que cumplían criterios microbiológicos de calidad. El cultivo se realizó en medios convencionales y la identificación se llevó a cabo mediante el sistema API coryne (bio-Mérieux). Se estudió la sensibilidad a 11 antibióticos por el método de difusión en agar.

Resultados: Se revisaron las historias clínicas de 12 pacientes (11 hombres y 1 mujer), y en 9 de ellos el aislamiento se consideró significativo. Las edades de los pacientes oscilaban entre los 17 y los 80 años. De los 12 pacientes 3 estaban inmunodeprimidos y 9 eran inmunocompetentes, de estos últimos 6 presentaban enfermedad pulmonar crónica precisando uno de ellos ventilación mecánica. Los aislamientos se relacionaron clínicamente con 4 casos de neumonía, 3 de infección respiratoria aguda, una traqueobronquitis, y una sobreinfección de bronquiectasias. En 3 pacientes los aislamientos no tuvieron trascendencia. Cuatro pacientes fueron tratados con β -lactámicos y cinco con quinolonas. Todos los aislamientos fueron sensibles a β -lactámicos, quinolonas, aminoglicósidos, tetraciclinas y glicopéptidos, resistentes a macrólidos y lincosamidas, y para el cotrimoxazol la sensibilidad fue variable.

Conclusiones: 1) Aunque las corinebacterias aisladas de muestras respiratorias se han considerado generalmente como flora comensal orofaríngea, en aquellas muestras que cumplan criterios de calidad deben ser valoradas e identificadas porque pueden ser las responsables del cuadro clínico. 2) El principal factor predisponente es una enfermedad pulmonar crónica o una enfermedad sistémica grave, sobre todo si se precisa de intubación endotraqueal.

015

INFECCIÓN RESPIRATORIA POR *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*

D.A. Rodríguez, F.J. Val, I. Santos, P. Vargas, R. Velayos y L. Guío

Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

Objetivos: Describir los aislamientos de *Stenotrophomonas maltophilia* (bacilo gram negativo responsable de múltiples infecciones y resistente a muchos antibióticos) en muestras de secreciones respiratorias con el fin de determinar la sensibilidad a diversos antibióticos, hallar posibles factores de riesgo asociados y observar la evolución de los pacientes.

Métodos: Estudio retrospectivo de aislamientos de *Stenotrophomonas maltophilia* en muestras respiratorias obtenidas sobre la base de datos del servicio de microbiología de nuestro hospital desde enero de 1999 hasta diciembre de 2000. Se contabilizaron 50 aislamientos de este germen (13 mujeres y 37 varones con una media de 65 años y rango de 21 a 85 años). Todos estaban ingresados (la mitad en la unidad de cuidados intensivos).

Resultados: Posibles factores de riesgo se encontraron: tratamiento antibiótico previo 94%, utilización de catéteres intravenosos 58%, intubación endotraqueal 22%, enfermedad pulmonar crónica 4%, neoplasias previas 26%, tratamiento inmunosupresor 20%, Diabetes Mellitus y/o insuficiencia renal crónica y/o hepatopatía 22% y cirugía previa 12%. En 13 pacientes se aislaron además otros gérmenes. Tratados con antibióticos según estudio de sensibilidad se obtuvo curación microbiológica en 38 casos, muerte por sepsis en 4, muerte por neumonía en 4 y muerte por otros motivos en 4. Ningún caso fue considerado como contaminante. El 95% de los casos era sensible a Cotrimoxazol, 80% a Ciprofloxacino, 71,4% a Piperacilina-Tazobactam, 41,5% a Ceftazidima y sólo 2,8% a Imipenem.

Conclusiones: En la infección respiratoria por *Stenotrophomonas maltophilia* el Cotrimoxazol, Ciprofloxacino y Piperacilina-Tazobactam pueden ser tratamientos adecuados para esta infección. El tratamiento antibiótico previo, las enfermedades pulmonares crónicas, los procedimientos invasivos y factores que producen inmunosupresión parecen estar relacionadas con su aparición.

016

INEFICACIA DEL RECAMBIO DE TUBULADURAS DE CIRCUITOS RESPIRATORIOS PARA REDUCIR INFECCIONES RESPIRATORIAS

L. Lorente, M. Lecuona, C. Revert, R. Galván, M.J. Ramos, M. Llavador y A. Sierra

Hospital Universitario de Canarias. Tenerife.

Objetivo: Analizar la utilidad del cambio periódico de las tubuladuras de los circuitos respiratorios para disminuir la incidencia de neumonía (N), traqueobronquitis (TB) y colonización traqueal (CT) en pacientes sometidos a ventilación mecánica (VM).

Método: Estudio prospectivo realizado entre 1-4-2001 y 31-9-2001. Se incluyeron todos los pacientes que ingresaron en UCI y precisaron más de 72 horas de VM. A su ingreso fueron randomizados en dos grupos: uno se ventiló con cambios periódicos en las tubuladuras (CPT) cada 48 horas y en el otro no se realizó el CPT durante todo el tiempo de VM. Se realizaron cultivos de la orofaringe al ingreso y posteriormente dos veces por semana. Las infecciones se diagnosticaron según los criterios de los CDC y se clasificaron en base a la flora orofaríngea en endógenas y exógenas. Para el análisis estadístico se utilizó Chi-cuadrado y t de Student, considerando una diferencia significativa cuando $p < 0,05$.

Resultados: Fueron incluidos 105 pacientes (65,7% varones, edad media de $60,7 \pm 18,7$ años, APACHE-II: $16,01 \pm 5,7$, Mortalidad: 22,8%). Se obtuvieron dos grupos (49 pacientes con CPT y 56 sin CPT) con similar edad, sexo, mortalidad y APACHE-II. Al analizar los pacientes que desarrollaban N por 1.000 días de VM (13,26% con CPT vs 15,42% sin CPT), no se encontraron diferencias significativas, al igual que con el desarrollo de TB (10,15% con CPT vs 6,43 sin CPT) y las neumonías de origen exógeno (3% con CPT vs 4,87 sin CPT).

Conclusión: El cambio periódico de las tubuladuras de los circuitos respiratorios no disminuye la incidencia de infecciones respiratorias asociadas a ventilación mecánica, ni si quiera las producidas por mecanismos exógenos.

016 bis

CARACTERIZACIÓN DE BROTES RESPIRATORIOS PRODUCIDOS POR STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA EN PACIENTES HOSPITALIZADOS

S. Valdezate*, **, P. Martín-Dávila*, A. Vindel**, M.A. Mesequer*, F. Baquero* y R. Cantón*

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

Objetivo: Analizar por técnicas de epidemiología molecular un grupo de aislamientos de *S. maltophilia* de muestras respiratorias de pacientes hospitalizados en distintas unidades hospitalarias.

Métodos: Entre marzo de 1997 y abril de 1998 se obtuvieron 22 aislamientos de *S. maltophilia* en 17 pacientes ingresados en el Hospital Ramón y Cajal de Madrid: 9 pacientes se hallaban hospitalizados en la unidad de Neumología, 4 en Cirugía General, 2 en la UCI de Cirugía, 1 en Cirugía Vascular y 1 en la UCI-Médica. La caracterización se realizó mediante electroforesis en campo pulsante (PFGE) tras restricción con *Xba*I, confirmando los pulsotipos idénticos mediante digestión con *Spe*I. El análisis de los resultados se realizó utilizando un dendrograma de similitud genética calculado mediante el coeficiente de Dice (UPGMA).

Resultados: Se identificaron nueve clones diferentes de *S. maltophilia* (A, B, C, D, E, F, G y H) en las cinco unidades. Los coeficientes de similitud genética oscilaron entre el 28% y el 100%. Los clones A, B y C se detectaron en 6, 3 y 2 pacientes, respectivamente, localizados en distintas unidades.

Estos brotes se detectaron de forma consecutiva en el tiempo: el clon A durante 83 días, el clon B durante 47 días y el clon C durante 12 días. La diseminación del clon A y el clon B se asoció a la manipulación de broncoscopios contaminados con este organismo, mientras que la causa responsable del clon C no pudo dilucidarse.

Conclusión: Aunque la mayoría de las infecciones/colonizaciones nosocomiales por *S. maltophilia* se adquieren de forma independiente, ocasionalmente, se pueden detectar brotes que pueden identificarse mediante la tipificación con PFGE.

017

INFECCIÓN RESPIRATORIA POR UREAPLASMA UREALYTICUM EN EL RECIÉN NACIDO GRAN INMADURO EN EL HOSPITAL LA PAZM. Cabrera¹, M.J. Uría², A. Rico¹, G. Lobato² y A. García-Perea¹¹Servicios de Microbiología. ²Servicio de Neonatología. Hospital La Paz. Madrid.

Ureaplasma urealyticum es un microorganismo que coloniza e infecta el tracto genital masculino y femenino y que puede producir infección respiratoria en el recién nacido por transmisión a través del canal del parto. El objetivo de este estudio es comunicar la existencia de esta patología y la importancia de su diagnóstico.

Métodos: Se revisaron aquellos recién nacidos pretérmino (RNPT) ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales que tuvieron infección por *U. urealyticum*. El diagnóstico microbiológico se realizó mediante cultivo del aspirado bronquial en la galería Mycoplasma IST (bioMérieux®).

Resultados: De 10 peticiones solicitadas en el 2001 se diagnosticaron 7 casos de infección pulmonar por *U. urealyticum*. La edad gestacional media fue de 25 semanas (rango: 24 - 26 + 4). El peso medio al nacimiento fue de 777 gr. El diagnóstico microbiológico se realizó entre los 11 y 49 días de vida (media: 24 días). Todos recibieron tratamiento con eritromicina a 10 mg/kg/dosis cada 6 horas, durante 14 días. En cuanto a la patología pulmonar todos desarrollaron enfermedad de membrana hialina y enfermedad pulmonar crónica del prematuro, precisando ventilación mecánica desde el nacimiento hasta una media de 56 días de vida, posteriormente asistencia con presión positiva en la vía aérea durante 21 días más y oxigenoterapia suplementaria hasta los 4 meses de edad. Dos niños fueron dados de alta con oxigenoterapia domiciliar y monitor de pausas de apnea. Ninguno tuvo infección precoz de otra etiología. Conclusiones: El *U. urealyticum* está asociado al desarrollo de enfermedad pulmonar crónica del recién nacido, sospechándose en aquellos niños con una evolución más tórpida y lenta de la enfermedad de membrana hialina. Es necesario disponer de una técnica de diagnóstico microbiológico para confirmar esta patología.

018

INFECCIONES RESPIRATORIAS CAUSADAS POR ADENOVIRUS EN PEDIATRÍA. A PROPÓSITO DE 100 CASOS

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

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

Se presenta un estudio retrospectivo sobre las características clínico-virológicas de los pacientes pediátricos con aislamiento de Adenovirus en muestras respiratorias (enero 1995-octubre 2001). Todas las muestras fueron sometidas a la detección antigénica frente al VRS (Directigen RSV) e inoculadas en 2 viales de la línea celular Hep-2 (VRS y adeno-

virus), MDCK (Influenza A y B) y LLC-MK2 (parainfluenza 1,2,3) mediante cultivo shell-vial. Tras 72 horas de incubación las monocapas fueron reveladas con anticuerpos monoclonales dirigidos contra los diferentes virus (Monofluokit, Pasteur). Los Adenovirus fueron revelados con el monoclonal H-60 y H-72 (Monofluokit Adenovirus). De las 5.746 muestras, 2.122 (36.9%) fueron consideradas como positivas. Se aislaron adenovirus en 100 pacientes, lo cual representa el 18% de las muestras VRS-negativas, el 4.7% de las positivas y el 1.7% de todas las muestras. En 89 casos se aisló sólo adenovirus y en 11 casos con otros virus (55% parainfluenza virus 3). El 49% de los aislamientos se realizaron entre octubre y marzo (picos en diciembre y marzo). Los aislamientos correspondían a 57 niños y 43 niñas con edad media de 14 meses (rango 1-120 meses). Las patologías predominantes fueron: bronquiolitis 61 casos, neumonía 10, crisis asmática 11, faringitis 8, broncopatía 5 y síndrome febril 5. En 5 casos se detectó la presencia de adenovirus en heces existiendo antecedentes de diarrea. Ningún paciente presentó conjuntivitis vírica asociada. El 70% de los casos habían recibido lactancia artificial y el 30% lactancia materna. Se detectaron 43 casos con antecedentes familiares de asma bronquial y el 13 de broncopatías crónicas. El 89% de los casos precisaron de ingreso hospitalario, realizando una estancia media de 6.8 días (rango 2-18 días). El 64% de los pacientes fueron tratados con broncodilatadores y el 57% con antibióticos. No se produjo ningún fallecimiento relacionado con la patología respiratoria.

Las infecciones respiratorias por Adenovirus se presentan preferentemente en niños < 12 meses y con un cuadro de bronquiolitis sin conjuntivitis.

019

INFECCIÓN POR *BURKHOLDERIA CEPACIA* EN NIÑOS CON FIBROSIS QUÍSTICA DE PÁNCREAS

L. Valdés*, I. Barrios**, M.P. Romero*, A. Carvajal* y A. García-Perea*

Servicio de Microbiología* y Neumología infantil** H.U. La Paz. Madrid.

Objetivos: Estudiar la prevalencia de *B. cepacia* en niños con fibrosis quística (FQ) en el Hospital Infantil La Paz y determinar la evolución en el patrón de sensibilidad de los antibióticos a lo largo del tratamiento.

Material y métodos: Se recogieron datos clínicos y microbiológicos de forma retrospectiva en un período comprendido entre 1991-2001. *B. cepacia* se aisló en los medios de cultivo habituales, requiriendo entre tres y cinco días de incubación. La determinación de la sensibilidad se realizó mediante el sistema PASCO® hasta 1999 y con el sistema WIDER® a partir de dicha fecha.

Resultados: De un total de 96 enfermos con FQ se aisló *B. cepacia* en 5 casos. La edad del diagnóstico osciló entre los 2 y 24 meses. Todos ellos tenían en común la mutación genética DF 508, dos pacientes eran homocigóticos y tres heterocigóticos. La afectación digestiva se presentó en todos los casos, con participación hepática y pulmonar variable. Se aisló *B. cepacia* de forma ocasional en un niño y en los cuatro restantes de forma repetida. La flora acompañante aislada con más frecuencia fue: *S. aureus*, *H. influenzae* y *H. parainfluenzae*. La paciente de mayor evolución falleció, con un deterioro respiratorio fulminante, en tres meses. La *B. cepacia* aumentó la resistencia a piperacilina-tazobactam, ceftazidima, cefepime, aztreonam, meropenem, ciprofloxacino y cotrimoxazol a lo largo del tratamiento.

Conclusiones: La prevalencia de *B. cepacia* fue del 5% similar a la referida en otros estudios. En nuestra experiencia el aislamiento de *B. cepacia* requiere mantener la muestra en incubación durante cinco días, debido a su lento crecimiento. La resistencia aumentó a los antimicrobianos citados a lo largo del estudio.

020

NOCARDIOSIS PULMONAR

V. Lloréns, A. Ferrer, J. de Gracia, G. Codina, M. Campins y E. Crespo

Servicios de Microbiología, Neumología y Medicina Preventiva. C.S.U. Vall d'Hebron. Barcelona.

Objetivos: Analizar las características clínico-microbiológicas de los pacientes con aislamiento de *Nocardia asteroides complex* (NAC), en muestras de vías respiratorias bajas durante un período de 12 años (1989-2000).

Pacientes y métodos: Se estudiaron 40 pacientes, 27 hombres y 13 mujeres, con una edad media de 45 años (8-82). Se aisló NAC en 129 muestras. El cultivo se realizó en medios convencionales, utilizándose, además, BCYE- α al visualizarse BGP ramificados en la tinción de Gram. Todas las cepas se identificaron por pruebas bioquímicas convencionales y FRLP en los últimos años. El antibiograma se realizó según las recomendaciones del NCCLS.

Resultados: En 18 pacientes (45%) el cultivo fue puro, en el resto se asoció más frecuentemente a *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *H. Influenzae*, *Aspergillus spp.* y *C. albicans*. La FRLP permitió identificar 19 cepas: 15 *N. asteroides sensu stricto*, 3 *N. nova* y 1 *N. farcinica*. El antibiograma demostró alta sensibilidad a trimetoprim-sulfametoxazol, vancomicina, β -lactámicos e imipenem y alto grado de resistencia a macrólidos, aminoglicósidos y ciprofloxacino. En 25 casos, los pacientes fueron diagnosticados de nocardiosis (5 infecciones diseminadas y 20 pulmonares) y en los 15 restantes, se consideró que existía una colonización bronquial. El factor de riesgo más frecuente en las infecciones, diseminadas o no, fue la corticoterapia sistémica. La patología de base que más se asoció en todos los cuadros clínicos fueron las bronquiectasias, asociadas o no a fibrosis quística (FQ). Hubo 7 exitus y 2 pacientes presentaron secuelas neurológicas.

Conclusiones: Las bronquiectasias (debidas o no a FQ), suponen un factor de riesgo importante para la colonización o infección por NAC. Debido a la inespecificidad clínica de las nocardiosis, la inclusión del medio de BCYE- α podría estar justificada en el procesamiento de las muestras de pacientes con enfermedad pulmonar no diagnosticada por otros métodos.

021

MICROBIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES DEL ESPACIO PLEURAL

P. Vázquez, J.M. Porcel, M. Vives, A. Nogues, M. Falguera, A. Moreno, A. Manonelles y M. García

Hospital Universitario Arnau de Vilanova. Lleida.

Objetivo: Conocer la microbiología del empiema en nuestro medio.

Métodos: Se revisaron retrospectivamente las historias clínicas de todos los pacientes con cultivo positivo en líquido pleural, excluyendo *Mycobacterium tuberculosis*, ingresados en el Hospital Universitario Arnau de Vilanova durante el período 1992-2000. De cada paciente se recogieron los siguientes datos: edad, sexo, factores predisponentes y datos microbiológicos del líquido pleural.

Resultados: Se incluyeron en el estudio 83 aislamientos en líquido pleural, pertenecientes a 74 pacientes. La mayoría de microorganismos identificados fueron bacterias Gram positivas (69%), mayoritariamente *Streptococcus pneumoniae* (17 aislamientos), estreptococos *viridans* (17) y *Staphylococcus aureus* (11), mientras que *Escherichia coli* (7) fue el patógeno aerobio Gram negativo más común. Los anaerobios se aislaron sólo en el 6% de los casos. La mayoría de las infecciones del espacio pleural fueron consecuencia de una neumonía (85%). Globalmente, el 68% de los pacientes con infección pleural tenían patología médica asociada, porcentaje que au-

mentó al 94% cuando se consideraron los empiemas por gérmenes Gram negativos. Los factores predisponentes más frecuentes fueron la EPOC, neoplasias e infección por VIH.

Conclusiones: La mayoría de los derrames pleurales para-neumónicos están causados por bacterias Gram positivas. Un alto porcentaje de pacientes con empiema por bacterias Gram negativas tiene enfermedades médicas asociadas.

Sesión 2 Micobacterias (I)

022

VALOR CLÍNICO DE LAS MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS AISLADAS EN MUESTRAS CLÍNICAS

L. Iglesias, P. Idigoras, J.M. García-Arenzana, X. Beristain y A. Valiente

Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián (Gipuzkoa).

Objetivo: Conocer la trascendencia clínica de las micobacterias no tuberculosas aisladas entre 1992 y 2000.

Material y métodos: Cultivo en agar Middlebrook 7H11, Löwenstein-Jensen y Coletos (en los últimos 4 años también medio líquido MGIT). La identificación se realizó por métodos convencionales y genéticos. Se descartaron contaminaciones durante el procesamiento de las muestras.

Resultados: Se aislaron 1.462 *Mycobacterium tuberculosis* complex (65,8%) y 759 micobacterias no tuberculosas (34,2%): *M. xenopi* (309), *M. gordonae* (130), *M. avium* complex (98), *M. fortuitum* (38), *M. chelonae* (36), *M. kansasii* (18), *M. scrofulaceum* (11), *M. aurum* (9), *M. marinum* (6), *M. lentiflavum* (6), *M. senegalense* (4), *M. simiae* (3), *M. nonchromogenicum* (3), *M. peregrinum* (3), *M. chitae* (1), *M. abscessus* (1), *M. haemophilum* (1), *M. flavescens* (1), *M. smegmatis* (1), *M. mucogenicum* (1) y micobacterias no tuberculosas sin identificación de especie (79). Sólo el 4,6% de los pacientes con micobacterias no tuberculosas tuvieron baciloscopia positiva (15 *M. avium* complex, 9 *M. xenopi*, 4 *M. gordonae*, 3 *M. chelonae*, 2 *M. marinum*, 1 *M. haemophilum* y 1 *Mycobacterium* sp.). Todas las cepas de *M. marinum*, *M. smegmatis* y *M. haemophilum* y más de la mitad de los aislamientos de *M. avium* complex y *M. kansasii* tuvieron valor clínico. Para el resto de las especies sólo 1 *M. simiae*, 6 *M. chelonae*, 1 *M. fortuitum*, 1 *M. scrofulaceum*, 1 *Mycobacterium* sp. y menos de 10 *M. xenopi* tuvieron valor clínico.

Conclusiones: 1) Se observa un incremento en el número de micobacterias no tuberculosas, debido probablemente a la incorporación del medio de cultivo líquido. 2) Es fundamental utilizar métodos rápidos para descartar precozmente que la especie aislada sea *M. tuberculosis*. 3) Debido a la infrecuente implicación clínica de algunas especies, para evitar tratamientos innecesarios, es importante que la información preliminar ofrecida al médico responsable del paciente oriente con respecto a la especie aislada.

023

RENDIMIENTO DEL ESPUTO FRENTE AL BAS Y EL BAL EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS

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

Objetivos: Evaluar el rendimiento del tipo de muestra en los cultivos de *Mycobacterium tuberculosis* en medio líquido Middlebrook y en medio sólido de Löwenstein-Jensen.

Métodos: Se han estudiado 52 casos de tuberculosis pulmonar activa confirmados clínica y microbiológicamente, ocurridos durante el período enero de 1996 - octubre de 2001. Se recogió el tipo de muestra remitida, esputos, BAL y BAS y se valoró el rendimiento de cada tipo de muestra de manera independiente. Se categorizaron los esputos por la positividad de 1, 2 o 3 esputos de los tres que se remitieron al laboratorio frente a muestras de BAL (lavado broncoalveolar) y BAS (aspirado bronquial selectivo).

Resultados: El rendimiento del esputo cuando se remite una muestra es del 17,5%, con dos muestras del 78%, y con tres muestras es del 95%. El rendimiento del BAL fue del 69% y la del BAS del 83%. El rendimiento de tres muestras de esputo es superior con respecto al BAL ($p < 0,05$), y frente al BAS ligeramente superior ($p = 0,08$). El rendimiento de dos muestras de esputo respecto al BAS y al BAL es similar.

Conclusión: El rendimiento de tres muestras de esputo es lo suficientemente alto como para diagnosticar la infección sin necesidad de otras técnicas invasivas. El empleo de 2 esputos es comparable con el del BAL.

024

CULTIVO DE LÍQUIDO PLEURAL: NECESIDAD O COSTUMBRE

R. Sertal, M. García, M. Pascual y L. Anibarro

Complejo Hospitalario de Pontevedra.

Introducción: La enfermedad tuberculosa tuvo una tasa de incidencia del 58.16×10^5 habitantes en Galicia en el año 2000. La Tuberculosis pleural representa la 2ª localización anatómica más frecuente, con un total de 260 casos durante dicho período.

Objetivos: Análisis retrospectivo de 133 muestras de líquido pleural procesados durante el año 2000, en los que se valora: – Eficacia del ADA en el despistaje de pleuritis tuberculosa. – % recuperación de *M. Tuberculosis* en cultivo de líquido pleural.

Material y métodos: Determinación bioquímica de ADA. Tinción de líquido pleural. Para el aislamiento del microorganismo las muestras fueron sembradas, tras centrifugación en Medios sólido (Coletos) y líquido (ESP), realizándose un frotis para tinción fluorescente y Zhiel. La identificación se realizó por hibridación con sonda específica de especie (Accu-probe®).

Resultados: De los 133 líquidos procesados, 14 (10,5%) cumplieron criterios bioquímicos de pleuresía tuberculosa. Se obtuvieron 2 cultivos positivos (0,16%), porcentaje que se vería incrementado si únicamente se procesasen para cultivo aquellos con ADA > 45 y/o pleocitosis mononuclear.

Conclusiones: 1) Se refleja nuevamente el poder discriminante del ADA en el diagnóstico etiológico de la tuberculosis pleural. 2) El uso del clásico cutt-off de ADA permitiría optimizar los cultivos, con la consiguiente disminución de la carga de trabajo. 3) Se observa un escaso rendimiento en el cultivo del líquido pleural, explicable por: factores preanalíticos y carácter paucibacilar de la muestra.

025

VALORACIÓN DE LOS MEDIOS BACTEC 12B Y LÖWENSTEIN-JENSEN EN EL AISLAMIENTO DE MICOBACTERIAS

A.I. González, J.R. Sanchiz, M. Ojer, A. Ruz e I. Dorronsoro
Servicio de Microbiología, Hospital de Navarra, Pamplona.

Objetivo: Evaluación de las ventajas que ha supuesto para el diagnóstico de la tuberculosis, la incorporación del sistema BACTEC 460TB junto al medio tradicional de L-J en el cul-

tivo rutinario de micobacterias y comparar el rendimiento de ambos medios.

Material y métodos: Se han estudiado 3894 muestras recibidas en 12 meses y que se sembraron simultáneamente en medio BACTEC 12B y L-J. La descontaminación se realizó con N-acetil-cisteína-NaOH, siguiendo procedimientos estandarizados. Para la identificación se utilizaron sondas genéticas (Gen-Probe, Inc.) y pruebas bioquímicas convencionales.

Resultados: De las 3.894 muestras procesadas, se aislaron micobacterias en 325 (8,3%). De ellas, 299 (92%) crecieron en BACTEC y 234 (72%) en L-J siendo la diferencia significativa ($p < 0,01$). Un 28% de los cultivos positivos, se obtuvieron exclusivamente en BACTEC y 8% exclusivamente en L-J. En cuanto al aislamiento de *M. tuberculosis*, el 18,6% de los 182 aislamientos, se obtuvieron exclusivamente en BACTEC y 7% exclusivamente en L-J.

El promedio de días para la obtención de cultivos positivos fue de 14,2 con BACTEC frente a 22,7 con L-J, esta diferencia se incrementó hasta 10,2 días en favor del BACTEC en los casos de tuberculosis con baciloscopias negativas. El porcentaje de cultivos que debieron ser desechados por contaminación fue de 1,9 en el caso de BACTEC y 4,8 en el de L-J.

Conclusiones: Con el sistema BACTEC 460TB, se ha conseguido una notable mejoría frente al cultivo tradicional en L-J en el número y velocidad de recuperación de micobacterias, estas diferencias han sido especialmente notables en el caso de tuberculosis con baciloscopias negativas, que son aquellas, en que realmente interesa una mayor sensibilidad y rapidez en el diagnóstico, sin embargo, dado que el 7% de los cultivos en que se aisló *M. tuberculosis* resultaron negativos en BACTEC, no podemos prescindir del medio sólido mientras no profundicemos en las causas de esta diferencia.

026

EL SISTEMA ESPII EN EL DIAGNOSTICO Y CONTROL DE TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS

J. Gutiérrez, P. Ruiz, M. Vaquero, F.J. Zerolo y M. Casal
Facultad de Medicina. Córdoba.

Objetivo: Demostrar la eficacia y validez del Sistema ESP II en el aislamiento y estudio de sensibilidad a antimicrobianos, en Micobacterias. Para ello se utilizó comparativamente como sistema de referencia el sistema Bactec 460 TB.

Material: Se han estudiado 10.401 muestras clínicas de enfermos con sospecha de tuberculosis, de las que 8580 fueron respiratorias. Todas las muestras tras su descontaminación y visualización microscópica se procesaron por el sistema ESP II y el sistema Bactec 460TB. Los cultivos positivos se identificaron por métodos genéticos y bioquímicos y en los casos solicitados se realizó el estudio de sensibilidad comparativamente. Todos los resultados fueron evaluados estadísticamente.

Resultados: Los promedios de tiempo necesarios para obtener crecimiento fueron por el sistema Bactec de 9 y 14 días según fueran baciloscopias positivas o negativas. Por el sistema ESP II fueron de 10 y 13 días respectivamente. La sensibilidad por Bactec fue de un 97,8% y para ESP un 98,1%. La especificidad con ambos sistemas fue de un 99,9%. En el estudio de sensibilidad se empleó una media de 4,83 días para Bactec y 4,55 días para ESP. La correlación para estreptomicina fue del 99,7%, 100% para rifampicina y etambutol y un 98,9% para isoniazida. En total, el estudio completo de una muestra con ESP II, necesita un promedio de 17,5-20,5 días en obtener resultados.

Conclusiones: Consideramos el sistema ESP II, como una alternativa válida a otros sistemas dada su sensibilidad y especificidad y la ventaja de ser un sistema rápido, automatizado y no radiométrico.

027

EVALUACIÓN DEL BDProbeTec ET PARA LA DETECCIÓN DIRECTA DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX EN MUESTRAS RESPIRATORIAS

I. Jesús, M.A. Jesús y M. Rodríguez-Iglesias

Laboratorio de Microbiología, Hospital Universitario
Puerto Real. Cádiz.

La Strand Displacement Amplification (SDA) es una técnica de amplificación isoterma de ácidos nucleicos que se realiza automáticamente en el sistema BD ProbeTec ET (Becton Dickinson).

Ha sido evaluado el sistema automático BDProbeTec ET para el diagnóstico molecular directo de *Mycobacterium tuberculosis* en muestras respiratorias de pacientes con sospecha clínica de tuberculosis.

Se procesaron 239 muestras, procedentes de 111 pacientes, que corresponden a 220 esputos, 9 líquidos pleurales, y 10 aspirados bronquiales. Todas las muestras fueron procesadas en el BD ProbeTec ET siguiendo las instrucciones del fabricante. A todas las muestras se les realizó una tinción de Ziehl-Neelsen y se cultivaron en medio líquido (BD BACTEC MGIT 960 SYSTEM, Becton Dickinson) y en medio sólido (Löwenstein-Jensen). La identificación se realizó mediante hibridación con sondas (GenProbe). El análisis de sensibilidad y especificidad utilizó el cultivo en medio líquido como referencia.

El BDProbeTec ET obtuvo resultados positivos en 23 muestras (todos esputos excepto un aspirado bronquial). El cultivo en medio líquido y sólido fue positivo en 19 y 15 muestras respectivamente y la tinción sólo fue positiva en 13 muestras. Cuatro muestras fueron PT(+) y MGIT(-), pertenecientes a pacientes en tratamiento activo. Una muestra fue PT(-) y MGIT(+), que se identificó como *M. chelonae*. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del PT (excluyendo ésta última muestra), fue del 100%, 98,2%, 82,6 y 100 respectivamente. La utilidad en el diagnóstico de líquidos pleurales no ha podido ser establecida en este estudio por el bajo número de este tipo de muestras. El BD ProbeTec ET es un sistema excelente, por su fiabilidad y rapidez, para el diagnóstico directo de tuberculosis en muestras respiratorias. Son necesarios estudios posteriores para establecer el tiempo en que la técnica da resultados positivos, con cultivo negativo, en pacientes tratados.

028

EVALUACIÓN DE LA DETECCIÓN DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN MUESTRA DIRECTA POR AMPLIFICACIÓN BDProbeTec

J. Sahagún, A. Vitoria, M.T. Llorente, S. Olivera, S. Julvez, B. Lobera, L. Santolaria, M. Oca y M.C. Rubio
H.C.U. Lozano Blesa. Zaragoza.

Objetivo: Evaluar el método de amplificación y detección por desplazamiento de cadenas de *Mycobacterium tuberculosis*, BDProbeTec, en comparación con la Auramina y el cultivo.

Método: Se seleccionan muestras de esputos y aspirados bronquiales de 19 pacientes con sospecha de TBC, que no han sido tratados con tuberculostáticos en el último año. Se analizan mediante BDProbeTec, tinción de Auramina y Löwenstein-Jensen (L-J) utilizando como método de referencia el cultivo en medio líquido MB/BacTTM240.

Resultados: En el cultivo en medio líquido MB/BacTTM240, se aísla en 7 de los 19 casos *M. tuberculosis*, en 2 casos *M. kansasii* y en otros 2 *M. fortuitum*, en un tiempo que osciló entre 5 y 30 días.

En un tiempo de unas 4 horas, el sistema BDProbeTec amplifica *M. tuberculosis* en 8 casos y la tinción de Auramina es positiva en 6, de los cuales 2 correspondieron a *M. kansasii*.

Respecto al cultivo en medio sólido (L-J), el tiempo de crecimiento osciló entre 10 y 40 días, aislándose *M. tuberculosis* en 6 de los 7 casos, *M. kansasii* en 2 casos y *M. fortuitum* en otros 2 casos.

Conclusiones: Pese a que nuestra serie es pequeña y no es muy representativa estadísticamente, los resultados obtenidos sugieren una alta sensibilidad y especificidad, ya que no hubo ningún falso negativo y solo un falso positivo, que se valoró como tal por los resultados repetidamente negativos en cultivos de muestras posteriores.

Tras esta evaluación, creemos que el sistema BDProbeTec es útil en el diagnóstico de *M. tuberculosis*, dada la rapidez de la técnica (4 horas) y la mayor sensibilidad y especificidad respecto a la tinción de Auramina; aunque en ningún caso puede sustituir al cultivo, ya que éste sigue siendo imprescindible para confirmar la presencia de *M. tuberculosis* y para el estudio de su sensibilidad.

029

EVALUACIÓN DEL MÉTODO MTD GEN-PROBE PARA EL DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

M.A. Ruiz, M.A. Lezcano, P. Gavin, L. Torres y M.L. Marco
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza.

Objetivos: Evaluar la utilidad en el diagnóstico rápido de infecciones producidas por *Mycobacterium tuberculosis complex*, mediante el test MTD Gen-Probe.

Material y métodos: Un total de 358 pacientes de los cuales se recogieron 640 muestras, 255 respiratorias y 385 no respiratorias, desde enero de 1999 hasta agosto de 2001, fueron evaluados por el método MTD (test Gen-Probe San Diego, CA, distribuido por bioMérieux s.a.) realizando la técnica según las instrucciones del fabricante. Así mismo se les realizó cultivo en medio de Löwestein-Jensen, MB-bact (bioMérieux) y tinción de Ziehl-Neelsen. El test MTD solo se realizó en muestras de pacientes con alta sospecha de tuberculosis con resultados microbiológicos (baciloscopia y/o cultivos) negativos en otras muestras anteriores y también en aquellos pacientes en los que se observaban escasos BAAR o con alteraciones en su morfología.

Resultados: Los resultados obtenidos por el test MTD se compararon con aquellos obtenidos por cultivo y se obtuvieron los siguientes resultados: sensibilidad 83,8%, especificidad 89,9%, valor predictivo positivo 65,5%, valor predictivo negativo 95,9%. Comparados con la baciloscopia los resultados fueron sensibilidad 59,4%, especificidad 90,5%, valor predictivo positivo 72,4%, valor predictivo negativo 87,8%.

Conclusiones: Existe buena sensibilidad y especificidad entre el test MTD el cultivo y la baciloscopia, estando las cifras en el rango de lo descrito por otros autores. El test MTD es una herramienta más en el diagnóstico de tuberculosis, proporcionando un diagnóstico rápido que permite la detección de *Mycobacterium tuberculosis complex* en muestras directas. La instauración más temprana del tratamiento, corta la cadena epidemiológica y evita la realización de pruebas innecesarias en todos los pacientes sobretudo en aquellos con factores de riesgo: inmunodeprimidos, transplantados, VIH, enfermos hematológicos.

030

EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE LISIS MICOBACTERIANA APLICADOS AL SISTEMA DE IDENTIFICACIÓN LiPA MYCOBACTERIA

E. Padilla, V. González, J.M. Manterola, A. Pérez, J. Lonca, M.D. Quesada y V. Ausina
Servicio de Microbiología, H.U. Germans Trias i Pujol.

Objetivos: Evaluar dos métodos de lisis simple aplicados al sistema de identificación de micobacterias LiPA MYCOBAC-

TERIA, Innogenetics, Belgium, con el objetivo de disminuir el tiempo requerido para la realización del procedimiento de extracción de DNA.

Métodos: 45 cepas de micobacterias de 17 especies diferentes fueron inoculadas en frascos de medio líquido MB-BacT (Organon Teknika, Durham, NC). Los métodos de lisis se aplicaron directamente sobre el medio de cultivo líquido una vez que el sistema detectara el crecimiento micobacteriano. Los sistemas de lisis a evaluar fueron: 1) Lisis por calentamiento (M1), y 2) sonicación (M2) con perlas de vidrio. Ambos sistemas fueron comparados con un método fundamentado en la lisis micobacteriana por congelación-calentamiento (M3) que es el actualmente recomendado por el fabricante.

Resultados: Con los tres sistemas de lisis obtuvimos idénticos resultados. El test LiPA Mycobacteria identificó correctamente los 37 (100%) de especies de micobacterias incluidas en la tira de nitrocelulosa. No se obtuvieron resultados de identificación para las restantes 8 micobacterias aisladas, y pertenecientes a especies no incluidas en la tira. La sensibilidad y especificidad de la técnica para los dos sistemas de lisis evaluados resultó del 100, y 100%, respectivamente. Los tiempos requeridos para la realización de los diferentes métodos de lisis fueron: M1: 30 min, M2: 45 min, M3: 120 min.

Conclusiones: 1) Para todos los sistemas de lisis ensayados, la sensibilidad y especificidad de la técnica LiPA MYCOBACTERIA en su aplicación directa sobre micobacterias aisladas en el sistema de cultivo MB-BacT resultó excelente. 2) Con los sistemas de lisis evaluados el tiempo global de realización de la técnica LiPA MYCOBACTERIA se reducen significativamente: 5 h. (M1), 5 h 15 min (M2), y 6 h 30 min (M3).

031

EVALUACIÓN DE LA PRUEBA AMPLICOR MTB PARA DETECCIÓN DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS EN MUESTRAS DE ORIGEN EXTRA-RESPIRATORIO

J.L. Del Pozo, A. Urdiain, M. Soler, M. Fernández y J. Leiva
Servicio Microbiología Clínica. Clínica Universitaria de Navarra.

Introducción y objetivos: Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico de la tuberculosis son más sensibles y específicas que las técnicas de examen microscópico, y más rápidas que los cultivos. La prueba AMPLICOR MTB está validada solamente para muestras respiratorias humanas (esputos y broncoaspirados) licuados, descontaminados y concentrados. Sin embargo, hoy en día la presión asistencial se centra en el diagnóstico de la tuberculosis extrarrespiratoria. En este trabajo hemos querido estudiar el valor de esta prueba aplicada sobre muestras procedentes de tejidos.

Material y métodos: Se han estudiado 224 muestras consecutivas procedentes de tejidos. Dichas muestras fueron procesadas de forma rutinaria y siguiendo los protocolos existentes en nuestro Laboratorio. Además se realizó una PCR (MTB) sobre cada una de las muestras.

Resultados: Se obtuvo un resultado positivo en la técnica de PCR (detección del gen 16S RNAr) en 12 de las 227 muestras estudiadas, el resto de determinaciones fue negativo. En las 12 muestras PCR + se confirmó el diagnóstico de tuberculosis mediante el cultivo. Dentro del grupo de las muestras PCR – se confirmó el diagnóstico de tuberculosis en 11 de ellas, presentando el resto (205) un cultivo negativo. La sensibilidad y especificidad de la prueba Amplicor MTB fue del 52,1% y del 100% respectivamente. El valor predictivo positivo de la prueba fue del 100% y el valor predictivo negativo del 94,9%. Se observaron bacilos ácido alcohol resistentes en las tinciones sobre la muestra en 10 de las 23 muestras positivas (sensibilidad total del 43,4%). En 3 de las muestras se aisló una micobacteria atípica, siendo las tinciones y la PCR negativas.

Conclusiones: La prueba Amplicor MTB es una prueba de utilidad para el diagnóstico de la tuberculosis extrarrespira-

toria, con resultados de sensibilidad por encima de las técnicas de observación directa, con una especificidad del 100% y con la principal limitación de su sensibilidad frente a la misma prueba aplicada a muestras respiratorias.

032

DIAGNÓSTICO RÁPIDO DE *M. TUBERCULOSIS* MEDIANTE REACCIÓN EN CADENA DE LA LIGASA EN TUBERCULOSIS GANGLIONAR

E. León, M.C. Rajo, E. Prieto, M.J. López, F. Pardo y M.L. Pérez del Molino

Servicio de Microbiología. Hospital Clínico Universitario Santiago de Compostela.

Objetivos: Evaluar el sistema LCx (Abbott), basado en la reacción en cadena de la ligasa, para la detección rápida de *M. tuberculosis* en adenopatías.

Métodos: Se analizaron 86 adenopatías procedentes de 82 pacientes, mediante el sistema LCx. El método seguido y la interpretación de resultados fue el descrito por el fabricante para muestras de origen respiratorio. Las muestras se descontaminaron con N-acetilcisteína-NaOH y se realizó en todos los casos tinción de auramina y cultivo en medio sólido (Coletsos) y líquido (Middlebrook 7H11). Como técnica de referencia se utilizó el cultivo. También se realizó revisión de historias clínicas.

Resultados: La tinción de auramina fue positiva en 13 casos de *M. tuberculosis* y en 2 de MAC. El cultivo lo fue en 22 casos, de ellos en 18 creció *M. tuberculosis* y en 4 MAC. El sistema evaluado dio resultado positivo en 24 adenopatías, uno de ellos se consideró un falso positivo porque en cultivo creció un MAC. También obtuvimos un falso negativo que se diagnosticó por la positividad del cultivo.

Conclusión: El LCx es una técnica de fácil manejo y útil para este tipo de muestras porque con ella hemos conseguido incrementar el porcentaje de diagnósticos confirmados en un 6%.

033

EVALUACIÓN DEL SISTEMA MB/BACT PARA DETERMINAR LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE *M. TUBERCULOSIS*

M.D. Tirado, R. Moreno, F. Pardo, M. Gil, B. Gomila y L. Amselem

Microbiología. Hospital General de Castellón. Castellón.

Objetivo: Evaluar el sistema MB/BacT (Organon Teknika) para determinar la susceptibilidad antimicrobiana de aislados clínicos de *M. tuberculosis*.

Material y métodos: Realizamos tests de susceptibilidad antimicrobiana a 58 aislados clínicos. Comparamos el sistema en medio líquido MB/BacT con el método clásico de las proporciones de Canetti en medio Löwenstein-Jensen. Cada técnica se llevó a cabo por una persona distinta siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Las concentraciones de antibióticos ensayadas fueron en MB/BacT: estreptomycin 1 µg/ml; isoniazida 1 µg/ml; rifampicina 1 µg/ml y etambutol 2,5 µg/ml. Cuando había discrepancias en los resultados se repetía el antibiograma en medio líquido y se enviaba la cepa al Instituto de Salud Carlos III (Majadahonda).

Resultados: Se obtuvo una concordancia entre ambos métodos del 100% para isoniazida y rifampicina. En el caso del etambutol se observaron 3 falsas resistencias que no se confirmaron al repetirlos. También aparecieron 3 casos de falsas resistencias con estreptomycin que se mantuvieron como tales en un segundo antibiograma, con lo que la concordancia para estos tuberculostáticos fue de 94,74%.

El tiempo medio de obtención de resultados fue de 9,2 días (rango entre 3 y 13 días).

Conclusiones: MB/BacT es un método fácil de realizar, reduce el tiempo de obtención de resultados y presenta una

buena correlación con el método de referencia. Creemos que las resistencias a etambutol y estreptomycin deben confirmarse por el método clásico mientras MB/BacT no se modifique.

034

ESTUDIO DE SENSIBILIDAD DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* A ANTITUBERCULOSTÁTICOS DE PRIMERA ELECCIÓN

D. Domingo, A. Perkins, T. Alarcón, M. Serrano, J. Díaz-Regañón y M. López-Brea

Servicio de Microbiología. Hospital U. de La Princesa. Madrid.

Objetivo: Estudiar la sensibilidad de *M. tuberculosis* a los antituberculostáticos de primera elección (estreptomycin, isoniazida, rifampicina y etambutol) en un hospital de 500 camas de Madrid.

Métodos: Se obtuvieron un total de 52 aislamientos de *M. tuberculosis* de diferentes pacientes, 46 de ellos procedentes de muestras respiratorias, correspondientes a un período de un año.

La identificación se realizó mediante sondas de hibridación Accuprobe (Gen Probe). La sensibilidad se realizó mediante el sistema SIRE (Becton Dickinson), en medio de Middlebrook 7H9. Como inóculo se utilizaron los aislamientos en medio líquido que habían sido reincubados durante 24 ó 48 horas tras haber sido detectados como positivos mediante el sistema MGIT 960 (Becton Dickinson). Se utilizaron las siguientes concentraciones de fármacos: estreptomycin (1 mg/L), isoniazida (0,1 mg/L), rifampicina (1 mg/L) y etambutol (5 mg/L).

Resultados: los resultados se obtuvieron a los 7 días de la inoculación (la media fue de 7,01 días, con un intervalo de 4 días 11 horas-10 días 5 horas).

El número de cepas resistentes fue el siguiente: 6 (11,5%), 2 (3,8%), 1 (1,9%) y 1 (1,9%) a estreptomycin, isoniazida, rifampicina y etambutol, respectivamente.

Se encontraron 2 cepas (3,8%) resistentes a isoniazida y estreptomycin y una cepa (1,9%) resistente a las cuatro drogas. Ninguna de las cepas resistente a dos o más fármacos procedía de un paciente VIH positivo.

Conclusiones: El método SIRE es un método rápido, fácil y eficaz para el estudio de sensibilidad a *M. tuberculosis* frente a estreptomycin, isoniazida, rifampicina y etambutol. Estreptomycin presentó la mayor tasa de resistencias con un 11,5%. Los índices de resistencia obtenidos en este trabajo frente a isoniazida, rifampicina y etambutol están en consonancia con los obtenidos en diferentes estudios en España.

035

ACTIVIDAD "IN VITRO" DE NUEVAS FLUOROQUINOLONAS Y DE LINEZOLID FRENTE A *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

J.C. Rodríguez, M. López, M. Ruiz y G. Royo

S. Microbiología. Hospital General Universitario de Elche. U. Miguel Hernández. Elche (Alicante).

Objetivo: Conocer la actividad "in vitro" de estos nuevos fármacos frente a aislados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis*

Métodos: Se estudiaron 243 cepas frente a moxifloxacino, levofloxacino, gatifloxacino y linezolid mediante el método de las proporciones en medio Middlebrook 7H11, incubado a 37 °C durante 21 días. La transmisión de las resistencias se estudió mediante RFLP de la secuencia de inserción IS6110.

Resultados: La CMI₅₀ de las tres fluoroquinolonas ensayadas es de 0,25 µg/ml y la CMI₉₀ es de 0,25 µg/ml para gatifloxacino y de 0,5 µg/ml para moxifloxacino y levofloxacino.

Linezolid presenta una CMI₅₀ y una CMI₉₀ de 0,5 µg/ml. Detectamos 5 cepas resistentes a las tres fluoroquinolonas y de ellas, tres presentan concentraciones mínimas inhibitorias elevadas para linezolid. Una de las cepas resistentes está agrupada mediante RFLP con tres cepas sensibles. Dos de las cinco cepas resistentes a las fluoroquinolonas ensayadas se aíslan de tuberculosis renales.

Conclusiones: Moxifloxacino y gatifloxacino, debido a su estructura química, presentan mayor actividad que levofloxacino. Linezolid presenta buena actividad "in vitro" y a pesar de que es de una familia distinta a las fluoroquinolonas, algunos de los aislados resistentes a éstas lo son también a linezolid.

A pesar de que la patogénesis de esta enfermedad no nos permite conocer el momento de la infección, la asociación de cepas resistentes con otras sensibles, aisladas con meses de antelación. Puede significar que la aparición de resistencias ha sido reciente, probablemente asociada a tratamientos empíricos con fluoroquinolonas; además un elevado porcentaje de las cepas resistentes se aísla en orinas.

La buena actividad "in vitro" de estos nuevos fármacos ensayados plantea la posibilidad de que puedan ser buenas alternativas terapéuticas, pero deben ampliarse los estudios para conocer su verdadera utilidad clínica, sobre todo frente a cepas resistentes a los antituberculostáticos clásicos.

036

DETECCIÓN RÁPIDA DE LA SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *M. TUBERCULOSIS* MEDIANTE EL MICOBACTERIOFAGO D29

N. Galí, S. Blanco, J. Domínguez, J. Lonca, E. Martínez, M. Pérez, J.M. Manterola y V. Ausina

Servicio de Microbiología, HU. Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Objetivos: Estandarizar una técnica rápida, simple y de bajo coste para el estudio de la susceptibilidad a isoniazida (INH), rifampicina (RIF) y estreptomycin (SM) de *M. tuberculosis* (MTB) utilizando el fago D29.

Métodos: La tecnología se basa en la capacidad del fago lítico D29 para infectar micobacterias viables tras exponer éstas a los antibióticos. Los fagos que infectan las micobacterias quedan protegidos en su interior y se replican, causando la lisis de los bacilos y la formación de una nueva progenie de fagos. Estos nuevos fagos se detectan por la formación de calvas de lisis sobre un cultivo confluyente de *M. smegmatis*. Una cepa es considerada resistente en el caso que se formen calvas de lisis. Se evaluaron 44 cepas de MTB: 18 resistentes a INH, 9 resistentes a RIF e INH, 5 resistentes a SM e INH y 12 sensibles a todos los fármacos. Los resultados fueron comparados con una técnica de susceptibilidad estándar (BACTEC). La CMI fue también determinada en el caso de las 32 cepas resistentes a INH: 15 de bajo nivel de resistencia (CMI 0,25-1 µg/ml) y 17 resistencia elevada (CMI ≥ 2 µg/ml).

Resultados: En 43 de las 44 cepas testadas (97,7%) los resultados de la RIF concuerdan con el método de referencia, mientras que se detectaron 3 discordancias en el caso de la SM (concordancia 93,2%). Los resultados de INH no concordaron en 8 casos con el "gold-standard" (concordancia 84,1%): 1 cepa sensible fue clasificada como resistente por el método de los fagos; y 7 resistentes fueron determinados como sensibles. Estas 7 cepas resistentes discordantes presentaron una CMI para INH entre 0,25-1 µg/ml, mientras que todas las cepas con una CMI elevada (≥ 2 µg/ml) fueron también determinadas como resistentes (17/17).

Conclusiones: El uso del fago D29 para detectar resistencias a RIF y SM ha presentado una buena concordancia con el método de referencia. Los resultados de la INH dependen del nivel de resistencia de las cepas. Esta metodología ofrece un test rápido, poco laborioso y económico.

037

EVALUACIÓN DEL E-TEST PARA EL ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD DEL COMPLEJO *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

F. Santos, J.I. García Cía, F. Cabria, J. Esteban, M.V. Torres, I. Gadea, M.S. Jiménez* y R. Fernández Roblas

Fundación Jiménez Díaz. *C.N.M. Madrid.

Objetivos: Evaluar la técnica de E-test para el estudio de sensibilidad del complejo *M. tuberculosis* en la rutina asistencial de un laboratorio de Microbiología.

Métodos: Se realizaron estudios de sensibilidad mediante E-test de acuerdo con la técnica recomendada por el fabricante en aquellos aislamientos con sospecha clínica y/o epidemiológica de resistencia a algún fármaco antituberculoso en el período abril 1996-septiembre 2001. Todas las cepas fueron además estudiadas en el Centro Nacional de Microbiología (C.N.M.) mediante la técnica de las proporciones utilizando el sistema BACTEC 460.

Resultados: Durante el período analizado se estudiaron 35 aislamientos pertenecientes al complejo *Mycobacterium tuberculosis* (29 *M. tuberculosis* y 6 *M. bovis*). 8 aislamientos presentaban resistencia a uno o más antituberculosos mediante la técnica de referencia. 6 de estos eran cepas multirresistentes (4 *M. tuberculosis* y 2 *M. bovis*). De la comparación de los resultados obtenidos por ambas técnicas se objetivaron 2 errores menores y 2 errores mayores. Los dos casos de errores mayores se dieron en Isoniazida (CMI de 0,125 mg/L y 0,015 mg/L) en 2 cepas de *M. bovis* multirresistente. Se detectó una cepa de *M. tuberculosis* con una CMI a Isoniazida de 0,025 mg/L que fue resistente por la técnica de referencia.

Conclusiones: E-test es una técnica válida para el estudio de sensibilidad antimicrobiana en *M. tuberculosis*. Sin embargo, en el caso de *M. bovis* los resultados de estudio de Isoniazida deben interpretarse con precaución, en particular en el contexto de resistencia a otros antituberculosos.

038

UTILIDAD DE LA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DEL ANTIBIOGRAMA DIRECTO DE *M. TUBERCULOSIS* EN PACIENTES BACILÍFEROS

P. Idigoras, D. Vicente, M. Alkorta, X. Beristain y E. Pérez-Trallero
Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián (Gipuzkoa).

Objetivo: Evaluar un método directo de susceptibilidad de *M. tuberculosis* en muestras clínicas con baciloscopia positiva.

Material y métodos: Método directo, basado en el descrito por T. Schaberg y col, utilizando el mismo medio de cultivo y discos que el método de referencia: agar Middlebrook 7H11 y discos de isoniazida (INH) de 1 µg y 5 µg, rifampicina (RA) de 5 µg, estreptomycin (STR) de 10 µg y 50 µg y etambutol (ETH) de 25 µg embebidos en el agar, en el centro de cada cuadrante de placas de Petri con 4 divisiones. Del sedimento obtenido tras la descontaminación de la muestra con n-acetil-cisteína/NaOH se inocularon 20 µl en cada cuadrante con drogas y en un cuadrante de control sin drogas. Las placas selladas con Micropore® se incubaron a 35 °C, con CO₂ al 5%. La lectura se realizó con ayuda del microscopio óptico (objetivo seco de 10 aumentos), con las placas colocadas de forma invertida, enfocando la superficie del agar, tres veces por semana a partir del 4º día. Se estudiaron 200 muestras (192 respiratorias, 5 orinas, 2 biopsias y 1 LCR).

Resultados: Por el método de referencia 14 cepas (7%) presentaron resistencia: 13 (6,5%), 6 (3%) y 6 (3%) fueron resistentes a INH, RA y STR respectivamente; 6 de ellas (3%) fueron multirresistentes. En 20 muestras (10%) el crecimiento insuficiente de la cepa por el método directo impidió obtener datos de susceptibilidad. Entre ellas sólo había una cepa re-

sistente. En dos cepas observamos una falsa resistencia a ETH. No hubo contaminaciones. En el 85,7% (12/14) del total de cepas resistentes y en el 92,3% (12/13) de las cepas resistentes obtenidas en el antibiograma directo, la resistencia fue detectada antes del 10º día. El informe en las cepas sensibles se emitió a las 3 semanas de la siembra.

Conclusión: En pacientes bacilíferos, la observación, con un microscopio convencional, de la presencia de microcolonias en la placa con antibióticos, sembrada directamente a partir de la muestra descontaminada, permite detectar precozmente las cepas resistentes.

039

BAJO NIVEL DE RESISTENCIA EN CEPAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* AISLADAS EN GIPUZKOA (1993-2001)

P. Idigoras, L. Iglesias, A. Valiente, J. Larruskain y E. Pérez-Trallero

Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián (Gipuzkoa).

Objetivo: Estudiar la evolución de la susceptibilidad a los principales fármacos antituberculosos de las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* aisladas en pacientes de Gipuzkoa durante los años 1993-2001.

Material y métodos: Se estudiaron 1005 cepas no seleccionadas aisladas en pacientes de distintos centros de nuestro área. Se utilizó el método de las proporciones en placas de 4 divisiones con agar Middlebrook 7H11 y discos comerciales de isoniazida (INH), rifampicina (RA), estreptomycin (STR) y etambutol (ETH) embebidos en el agar. La concentración final de los antimicrobianos en el medio fue 0,2 µg/ml y 1 µg/ml de INH, 1 µg/ml de RA, 2 µg/ml y 10 µg/ml de STR y 5 µg/ml de ETH; un cuadrante sin drogas sirvió de control de crecimiento. Las placas, selladas con Micropore®, se incubaron a 35°C con CO₂ al 5%, realizando dos lecturas los días 12 y 21.

Resultados: De las 1005 cepas estudiadas, 57 (5,7%) presentaron algún tipo de resistencia: 48 (4,8%), 10 (1%), 16 (1,6%) y 2 (0,2%) fueron resistentes a INH, RA, STR y ETH respectivamente. La resistencia a dos o más drogas se detectó en 15 cepas, aunque sólo 9 (0,9%) cumplieron los criterios de multirresistencia (al menos resistentes a INH+RA). El 65,3% de los pacientes presentaron resistencia primaria y el 34,7% adquirida. En 8 pacientes este dato no pudo ser conocido. La proporción global de cepas con resistencia primaria a INH fue inferior al 3% (sólo en 1994 y 1995 se sobrepasó ligeramente el 4%). De las 9 cepas multirresistentes, 5 se aislaron en 1997, aunque ni en este ni en otros años detectamos brotes asociados a cepas resistentes.

Conclusiones: 1) A lo largo de estos años no ha habido un incremento en la proporción de cepas resistentes. 2) La resistencia de las cepas de *M. tuberculosis* aisladas en nuestro medio se mantiene por debajo del límite que permite la utilización empírica de tres fármacos en el tratamiento inicial de la tuberculosis. 3) Las cepas multirresistentes no constituyen, de momento, un problema grave en nuestro medio.

040

MUTACIONES DE *M. TUBERCULOSIS* QUE CONFIEREN RESISTENCIA A RIFAMPICINA E ISONIAZIDA EN AISLAMIENTO CLÍNICOS

C. Llanos¹, M. Ruiz¹, A. Criado³, M.J. Torres³, P. Ruiz², M. Casal², J.C. Palomares³ y J. Aznar¹

¹HUV Rocío (Sevilla), ²HU Reina Sofía (Córdoba),

³Dpto. Microbiología. Universidad de Sevilla.

Objetivos: Realizar la identificación epidemiológica molecular de las cepas de *M. tuberculosis* aisladas en distintas ciu-

dades andaluzas resistentes a rifampicina e isoniazida. Caracterizar las mutaciones de los genes implicados en la resistencia.

Material y métodos: Se estudiaron 113 cepas resistentes a rifampicina y/o isoniazida aisladas en Sevilla, Córdoba y Jerez entre los años 1993-1999. A estas cepas se les realizó la determinación de la sensibilidad, RFLP y análisis molecular mediante PCR en tiempo real y secuenciación de los genes *rpoB*, *katG*, *inhA* y *ahpC*.

Resultados: Durante el período de 1993-1999 se han caracterizado 113 cepas de *M. tuberculosis*: 27 resistentes a rifampicina, 56 resistentes a isoniazida y 30 resistentes a ambos fármacos. Encontramos 9 mutaciones distintas en el gen *rpoB* asociadas con resistencia a rifampicina siendo la más frecuente la sustitución Ser₅₃₁→Leu (36 cepas [63,1%]). No encontramos ninguna mutación en 5 cepas (8,7%) resistentes a rifampicina. Con respecto a la resistencia a isoniazida la mutación más frecuente en el gen *katG* fue el cambio Ser₃₁₅→Thr (46 cepas [53,5%]) y la mutación C209T la única encontrada en el *inhA* (5 cepas [5,8%]). No encontramos mutaciones en el gen *ahpC*. En 28 cepas resistentes a isoniazida (%) no se detectó ninguna mutación. Los análisis de los RFLP detectaron tres brotes de 7, 3 y 2 pacientes entre las distintas cepas estudiadas.

Conclusiones: El mapa epidemiológico molecular de las cepas resistentes de *M. tuberculosis* obtenido es similar al descrito en otros países europeos y de EEUU en cuanto a las mutaciones más frecuentes. Sin embargo la gran variedad de mutaciones encontradas sobre todo en el gen *rpoB* y el elevado número de cepas resistentes a isoniazida en las que no se encuentra ninguna mutación hacen evidente la necesidad de este tipo de estudios

041

DETECCIÓN DE RESISTENCIA A ISONIACIDA EN *M. TUBERCULOSIS* (MTB) MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL Y "MOLECULAR BEACON"

S. Hernando, A. González-Ruiz, D. García de Viedma* y F. Chaves
Servicio de Microbiología, Hospital Doce de Octubre y *Gregorio Marañón, Madrid.

Objetivos: Identificar mutaciones en el codón 315 del gen *katG*, donde con más frecuencia se describen mutaciones que confieren resistencia a isoniazida (INH), en aislados clínicos de MTB mediante PCR en tiempo real y sondas fluorescentes (MB).

Material y métodos: Se procesaron 39 muestras de ADN purificado obtenidas a partir de una colección de aislados clínicos de MTB. Se estudiaron de forma ciega 16 muestras constituidas por lisados de MTB obtenidos de otro centro. La resistencia a INH se determinó mediante el método de las proporciones. La caracterización molecular de las mutaciones en el codón 315 se realizó mediante la digestión con la enzima *MspAI* y/o la secuenciación del fragmento de ADN. La reacción de PCR incluía los *primers* para la amplificación de un fragmento de 191 pb, y una sonda fluorescente de ADN (MB), complementaria de la secuencia salvaje del gen *katG*. La presencia de mutación en el codón 315 impide la hibridación y no se detecta fluorescencia. Se utilizó el instrumento LightCycler (Roche).

Resultados: El método detectó mutación en *katG* 315 en 17 de los 29 aislados (58,6%) que mostraron una CMI > 1 µg/ml. En los 6 aislados con CMI entre 0,2 y 1 µg/ml y los 4 con CMI < 0,2 µg/ml no se detectó mutación con este método. De los 16 aislados clínicos analizados de forma ciega, se detectó mutación en el codón 315 en 4 de 5 muestras resistentes a INH. El resto de muestras eran sensibles. Los resultados en ambos casos fueron concordantes con los métodos de referencia.

Conclusiones: La PCR en tiempo real unida al uso de MB es un método simple y rápido para demostrar la presencia de mutaciones en el codón 315 del gen *katG* y predecir resis-

tencia INH. No obstante debido a la complejidad de la resistencia a INH en la que se ven involucrados más de un gen, quizás sea necesario diseñar *primers* y sondas que detecten otro tipo de mutaciones.

042

DETECCIÓN DE RESISTENCIA A RIFAMPICINA EN *M. TUBERCULOSIS* MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL Y "MOLECULAR BEACON"

A. González-Ruiz, S. Hernando. D. García de Viedma*, M. Alonso-Sanz y F. Chaves

S. de Microbiología, H. Doce de Octubre, y S. de Microbiología y E. Infecciosas, H. Gregorio Marañón, Madrid.*

Objetivo: Más del 96% de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) resistentes a rifampicina (RIF^r) tienen mutaciones en un fragmento de 81 pb del gen *rpoB*. El objetivo de este estudio fue evaluar una técnica rápida para la detección genotípica de resistencia a rifampicina en aislados clínicos de Mtb.

Material y métodos: Se incluyeron 21 muestras de ADN de una colección de aislados clínicos de Mtb sensibles (3) y resistentes a RIF (18). Se estudiaron de forma ciega 16 muestras constituidas por lisados de Mtb obtenidos de otro centro. La sensibilidad a RIF se determinó mediante el método de las proporciones. La caracterización molecular de las mutaciones se realizó mediante secuenciación de un fragmento de 255 pb que incluía la región donde se han descrito las mutaciones. El método utilizado fue una PCR en tiempo real con 5 sondas fluorescentes específicas ("molecular beacon", MB). La presencia de alguna mutación en alguno de los codones impide la hibridación y no se detecta fluorescencia. La reacción fue monitorizada mediante el instrumento LightCycler (Roche).

Resultados: El método de PCR con MB detectó algún tipo de mutación en 17 de las 18 muestras RIF^r. Las muestras RIF^s no presentaron ningún tipo de mutación. La secuenciación demostró que las 18 muestras RIF^r presentaban 11 mutaciones diferentes, incluyendo las descritas más frecuentemente en los codones 531, 526 y 516. La única discrepancia fue una mutación descrita muy raramente en el codón 533 (T→C), que no fue detectada. Las muestras RIF^s presentaban la secuencia salvaje. De los 16 aislados clínicos analizados de forma ciega, se detectó algún tipo de mutación en 10 muestras de las 11 RIF^r y en ningún caso en las 5 RIF^s.

Conclusiones: Nuestros resultados sugieren que la técnica de PCR en tiempo real con MB es un método simple y rápido para detectar la presencia de mutaciones en el gen *rpoB* y predecir la resistencia a RIF.

043

INFECCIONES PRODUCIDAS POR *MYCOBACTERIUM BOVIS* SENSIBLES Y MULTIRRESISTENTES

P. Robles, J. Esteban, R. García Delgado, M. Górgolas y M. Fernández Guerrero

Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid.

Se han descrito en España brotes epidémicos producidos por *M. bovis* MR en pacientes con SIDA. Sin embargo, desde una óptica más general, las infecciones por *M. bovis* no han sido objeto reciente de revisión por lo que su frecuencia, espectro clínico y pronóstico son solo parcialmente conocidos. Hemos estudiado 13 casos de infecciones por *M. bovis* durante un periodo de 20 años. Estos casos suponen el 1,1% de 1172 casos probados de tuberculosis vistos en ese periodo. Los aislamientos fueron diagnosticados mediante tests bioquímicos y sondas de DNA. La sensibilidad in vitro fue analizada mediante un sistema de producciones y E-test.

77% eran varones y la edad media fue de 50 años; 5 (38,4%) estaban previamente sanos, 4 (30,7%) tenían SIDA, 2 pade-

cían enfermedades pulmonares crónicas y 2 malnutrición, diabetes y tratamiento corticosteroideo. La localización de la infección y sus manifestaciones fueron predominantemente pulmonares aunque un paciente presentó enf de Pott dorsaly los 4 enfermos con SIDA infección diseminada (media de linfocitos CD4 72 mcl). En 7 (53,8%) casos *M. bovis* eran MR. En comparación con los pacientes con infección por *M. bovis* sensible al los fármacos, los pacientes con infección por *M. bovis* MR eran más jóvenes (39,7 vs 62,6), presentaba fiebre persistente ($p < 0,001$), tenían VSG elevada e hiponatremia ($p < 0,04$), tenían infecciones diseminadas (57% vs 0), y mayor mortalidad (71% vs 16,6%). Solo una mujer inmunocompetente se curó se la infección por *M. bovis* MR. El resto fallaron o desarrollaron infecciones crónicas intratables. Las infecciones producidas por *M. bovis* son infrecuentes en nuestro medio. Los aislamientos MR son más frecuentes en personas con SIDA pero no exclusivos de ellas. El pronóstico depende, no solo se la resistencia, sino de la situación inmunológica del sujeto.

Sesión 3

Infecciones estafilocócicas y asociadas a catéter

044

STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA ENDEMICO: CONTROL TRAS LA IMPLANTACIÓN DE UN PROGRAMA ESPECÍFICO

J. Rodríguez Baño, A. Pascual, E. Ramírez, L. García, C. Lupión, L. Martínez Martínez, A. Domínguez, E.J. Perea y M.A. Muniain
Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Describir la evolución de la endemia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) en un hospital de tercer nivel tras la implantación de un programa de control específico.

Métodos: Desde principios de los años 90, SARM era endémico en nuestro hospital, causando casos de infección en todos los servicios del centro, que suponían globalmente alrededor del 50% de las infecciones nosocomiales por *S. aureus*. En enero de 1998 se inició un programa de control en 3 fases: (1) investigación epidemiológica y medidas generales (refuerzo de medidas universales y aislamientos de contacto); (2) detección activa de pacientes y personal colonizado en las unidades con alta tasa de transmisión, y descolonización de aquellos casos que se consideraron susceptibles; y (3) control de reingresos y de ingresos de otros centros, seguimiento tras el alta de pacientes colonizados no susceptibles de descolonización y control en consultas externas.

Resultados: La incidencia de colonización/infección nosocomial por SARM antes del inicio del programa era de 0,57 casos/100 ingresos. La aplicación de la fase (1) no produjo cambios apreciables en la incidencia. En mayo de 1999, 5 meses después del inicio de la fase (2), la incidencia comenzó a decrecer, y después de realizar control activo en 8 servicios o unidades con alta tasa de transmisión, disminuyó hasta 0,22 casos/100 ingresos. Tras la implementación de la fase (3), la incidencia llegó a ser de 0,07 casos/100 ingresos. En el mismo periodo, la incidencia de bacteriemia nosocomial por *S. aureus* disminuyó a la mitad a expensas de la disminución de la bacteriemia por SARM.

Conclusiones: la implantación de un programa de control específico y adaptado fue eficaz en el control del SARM. La incidencia de SARM no disminuyó hasta que no se incluyó la vigilancia activa de pacientes y sanitarios colonizados en las áreas con más alta tasa de transmisión.

045

INFECCIONES POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A LA METICILINA. EFICACIA DE UN PROGRAMA DE VIGILANCIA

M. González, C. Alonso, C. Cortés e I. García

Hospital de la Creu Roja de l'Hospitalet de Llobregat, Barcelona.

Introducción: En nuestro país se ha aceptado que la erradicación de los casos endémicos de infección por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) en los grandes hospitales es imposible. Sin embargo, en los países del norte de Europa se ha conseguido controlar este fenómeno con notable éxito con la aplicación de programas de vigilancia específicos.

Objetivo: Presentar los resultados de la aplicación del programa de vigilancia de MRSA del Consorci Sanitari Creu Roja desde 1991 al 2001.

Material y método: Se recogió muestra nasal para estudio de presencia de MRSA a todos los pacientes procedentes de otros centros, al personal y alumnos de nueva incorporación que hubiesen trabajado o hecho prácticas recientemente en otros centros sanitarios. Una vez conocido el diagnóstico de colonización o infección, se aplicó aislamiento cutáneo o respiratorio a los pacientes, y tratamiento según correspondiera, y se recogió muestra, con escobillón, a todo el personal que tuvo contacto directo con el paciente. Se aplicó mupirocina nasal en la colonización asintomática del personal. Se rastreó el origen epidemiológico de todas las cepas de MRSA y se definieron como autóctonos aquellos casos en los que no se pudo determinar otro origen que no fuera el mismo hospital.

Resultados: Entre los años 1991 y 2001 se realizaron 10.969 frotis de control y se aislaron 110 cepas de MRSA, 89 en pacientes y 21 en personal sanitario. El origen de las cepas de los pacientes fue: a) centro sócio-sanitario o residencia geriátrica en 73 casos, b) otro hospital en 6, c) personal sanitario de atención domiciliar en 2, d) no se pudo determinar en 1 y e) autóctonos en 8, estos últimos en el año 1991.

Conclusiones: Desde que apareció el primer brote y se puso en marcha el protocolo de vigilancia no se ha producido ninguno más. Se ha evitado la instauración de cepas autóctonas. La mayoría de casos proceden de centros socio-sanitarios. Cumplir el protocolo ha sido fundamental para evitar nuevos brotes.

046

UTILIDAD DEL CRIBAJE PROTOCOLIZADO DE LA INFECCIÓN-COLONIZACIÓN POR SARM EN UN HOSPITAL COMARCAL

R. Vidal*, J.M. Tricas, F.J. Muñoz-Rodríguez, J. Gil**, T. Nicolas** y J. Vilaseca

*Servicio de Medicina Interna, *Microbiología y **Departamento de Enfermería del Hospital de Mollet (Barcelona).*

La prevalencia de SARM está aumentando progresivamente en los aislados comunitarios y nosocomiales. La incidencia real aumenta cuando se hace una búsqueda activa. En nuestro centro la incidencia anual de aislamientos de SARM era de 1-2/año antes de la aplicación del protocolo.

Objetivos: Conocer la prevalencia de los aislados de SARM en nuestro centro (Hospital de 100 camas, 6600 ingresos/año, área de influencia de 85.000 personas, *unidad de convalecencia incorporada en el mismo edificio*, dispone de *unidad de diálisis* pero no UCI).

Material y métodos: Se aplicó sistemáticamente un protocolo de búsqueda activa de SARM desde urgencias. Período de seguimiento enero 2000- octubre 2001. Criterios del cribaje: 1) Procedencia de residencia geriátrica. 2) Procedencia de un centro de 3º nivel 3) Paciente colonizado previamente. 4) Búsqueda activa en el personal sanitario colonizado si no

se respetaban las medidas de contacto o en los casos de origen nosocomial. Aislamiento cauteloso en caso de tener úlceras y provenir de residencia. Muestras recogidas (frotis nasal, faríngeo, perineal y úlceras).

Resultados: Se han realizado 461 cribajes (258 personal sanitario, 203 pacientes). Se han aislado 46 cepas de SARM (44 en pacientes y 2 en personal sanitario). Procedencia de los aislados: 25 residencia, 13 domicilio, 8 nosocomiales. La tasa de meticilin-resistencia entre todos los aislados de *S. aureus* ha sido del 20% (46/226). No se produjeron brotes nosocomiales. Se violó el protocolo en 6 ocasiones.

Conclusiones: La búsqueda activa protocolizada de la colonización por SARM ha permitido conocer cual es la situación real de endemicidad y prevenir la aparición de brotes nosocomiales.

047

BACTERIEMIA POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS: UNA CAUSA PERSISTENTE DE MORBIMORTALIDAD

R. Piñero, J. Medrano, M.C. Solano, B. Benítez, C. Criado, M. Tejeda, I. Gadea y M.L. Fernández Guerrero

Fundación Jiménez Díaz. U.A. Madrid.

Este es un estudio retrospectivo de la bacteriemia por *S. aureus* (BSA) durante el último decenio en un hospital terciario. Sus objetivos fueron conocer los focos de origen, complicaciones y mortalidad de la BSA con la finalidad de desarrollar medidas preventivas y normas para la utilización del tratamiento empírico con vancomicina y controlar su uso. Hasta el 22/XI/01 se han revisado 102 pacientes con BSA (> 2 hemocultivos +). El 58,8% eran hombres y la edad media del grupo fue 61,2 años. La BSA fue nosocomial en el 69,6% de las ocasiones. Una gran variedad de enfermedades subyacentes incluyendo cirugía mayor (36,2%), cáncer (21,5%), diabetes mellitus (14,7%), inmunosupresión (24,5%), nefropatías (17,6%), enf. cardiovasculares (22,8%), enfermedad pulmonar (15,7%) entre otras estaban presentes en los pacientes. Los catéteres iv (36,3%), las infecciones quirúrgicas (22%) y la neumonía (12,7%) fueron los principales focos primarios identificados. Hasta un 32% presentaron focos metastásicos o supurativos como complicación de BSA (endocarditis 15%; artritis 7,8%; osteomielitis 3,9%; abscesos viscerales 5%; pericarditis 2%). Los aislamientos fueron MSSA 73,5% y MRSA 25,5%. La mortalidad global (30 días) fue 38,2% y la mortalidad relacionada 22,5%. En el análisis multivariante, la edad avanzada, la inmunosupresión y el cáncer fueron los principales factores asociados.

En este análisis preliminar, la BSA se manifiesta como una grave enfermedad, con complicaciones frecuentes y alta letalidad. La BSA es un grave riesgo nosocomial en personas con cáncer y cirugía mayor.

La revisión de las historias clínicas y protocolos microbiológicos continúa.

048

INCIDENCIA DE S. AUREUS RESISTENTE A METICILINA (SARM) ENTRE 1998-OCT 2001: FENOTIPADO Y ANÁLISIS EPIDEMIOLÓGICO

A. Moreno*, M.C. Durán**, N. Batista*, C. Sierra* y O. Díez*

Unidad Microbiología y S. Medicina Preventiva**, Hospital Ntra. Sra. Candelaria. S.C. Tenerife.*

Objetivos: Estudiar los casos de cultivos positivos por SARM detectados en nuestro hospital durante el período 1998-Oct 2001, así como los fenotipos de resistencias y datos epidemiológicos asociados a dicha infección.

Métodos: Comparamos de forma prospectiva todos los casos de SARM de nuestro hospital, estudiando las siguientes va-

riables: fecha cultivo, tipo de muestra, procedencia, adquisición intra/extrahospitalaria y fenotipos de resistencia. La sensibilidad antimicrobiana se realizó mediante el sistema automatizado Vitek (BioMérieux), y la resistencia a meticilina se detectó mediante el test de difusión con disco de oxacilina de 1 ug (normas NCCLS).

Resultados: Se detectaron un total de 212 cultivos positivos por SARM. La tasa de resistencia a meticilina fue de: 7,1% (1998), 7,5% (1999), 8,9% (2000) y 13,7% (Oct 2001). El fenotipo de resistencia predominante en la mayoría de los casos fue: R a clindamicina (CL), eritromicina (E), ciprofloxacina (CIP), gentamicina (G) y tetraciclina (T). A partir del año 1999 se observó un cambio en el comportamiento fenotípico de los SARM, apareciendo un nuevo fenotipo: R (CL, E, CIP) y S (G, T).

La tasa de incidencia de pacientes hospitalizados con infección por SARM aumentó de 1,4 casos/1000 ingresos en 1998 a 3,7 casos por mil en 2001.

La distribución de los casos de SARM por tipo de muestra y según su frecuencia fue: 60,3% exudados, 21,7% muestras respiratorias y 8% hemocultivos. La mayoría de los casos procedían de: 41% Medicina Interna, 39% Cirugía y 16% UCI.

En el período estudiado reingresaron 9 pacientes con infección previa por SARM. El tiempo medio desde el 1^{er} cultivo positivo hasta el reingreso fue de 300 días (rango 30-1140).

Conclusiones: 1) La incidencia de SARM aumentó de un 7,1% en 1998 hasta un 13,5% en Octubre 2001. 2) Observamos un cambio en el comportamiento fenotípico de los SARM aislado en nuestra área a partir de 1999, indicando posiblemente la aparición de un nuevo clon epidémico.

049

TIPAJE DE SARM MEDIANTE MARCADORES FENOTÍPICOS Y GENOTÍPICOS

I. Montesinos, T. Delgado, M.J. Ramos, M. Cuervo, M. Lecuona, A. Torres y A. Sierra

Microbiología. Hospital Universitario de Canarias.

Objetivos: El tipaje de SARM mediante PFGE y su asociación con el fenotipo de resistencia y el polimorfismo del gen de la proteína A y de la coagulasa.

Método: Se estudiaron 128 aislamientos de SARM procedentes de muestras clínicas y fosas nasales de pacientes personal sanitario. Se realizó: 1. PFGE. 2. Fenotipo de resistencia. 3. Polimorfismo del gen de la proteína A (amplificación del gen de la proteína A). 4. Polimorfismo del gen de la coagulasa (amplificación del gen de la coagulasa y posterior digestión con los enzimas *AluI* y *HaeIII*). El análisis estadístico se realizó aplicando Chi-cuadrado y corrección de Fisher.

Resultados: Se encontraron 3 pulsotipos distintos: el pulsotipo A con 12 subtipos (88%), el pulsotipo B con 2 subtipos (11%) y un aislamiento con pulsotipo C (1%). El subtipo A1 fue el más frecuentemente encontrado (63%). Se encontraron 10 fenotipos de resistencia de los cuales el Ant-1 (66%) fue el más frecuente. Mediante el polimorfismo del gen de la proteína A se encontraron 4 variantes. La más frecuente fue la variante *spa1* con 11 repeticiones (74%). Se encontraron 5 variantes mediante el polimorfismo del gen de la coagulasa. El más frecuente fue el *coa1* (88%). Para el análisis estadístico se agruparon en: A y subtipos de A, B y subtipos de B y C; Ant-1, Ant-2 y miscelánea; *spa1*, *spa2-4* y *spa3*; *coa1*, *coa2* y miscelánea. La asociación entre las variantes encontradas mediante los distintos marcadores epidemiológicos utilizados fue buena existiendo en ella significación estadística: PFGE-fenotipo de resistencia (Chi-cuadrado = 34,5; 4 gl; $p < 0,001$), PFGE-*spa* (Chi-cuadrado = 90,6; 4 gl; $p < 0,001$), PFGE-*coa* (Chi-cuadrado = 152,6; 4 gl; $p < 0,001$), fenotipo de resistencia-*spa* (Chi-cuadrado = 87,4; 4 gl; $p < 0,001$), fenotipo de resistencia-*coa* (Chi-cuadrado = 33,6; 4 gl; $p < 0,001$), *spa-coa* (Chi-cuadrado = 91,6; 4 gl; $p < 0,001$).

Conclusiones: La PFGE se confirma como el marcador con mayor poder discriminativo. El resto de los marcadores se asociaron bien con los pulsotipos, siendo de utilidad clínica por su rapidez y sencillez de realización.

050

TIPOS CLONALES DE SAMR Y EVALUACIÓN DE CUATRO MÉTODOS DE GENOTIPADO BASADOS EN PCR

C. Potel, M. Álvarez, C. López-Melendez e I. Otero

Hospital Xeral-Cies y Clínica Fátima, Vigo.

Objetivos: Estudiar cuatro métodos de tipado molecular empleados para la caracterización de los SAMR aislados durante 1997-2000 en dos centros sanitarios de Vigo, y comparar los tipos clonales existentes con los clones epidémicos Brasileño, Portugués e Ibérico.

Materiales y métodos: Durante cuatro años se aislaron 93 cepas de SAMR de muestras de distintos pacientes.

Para el genotipado se emplearon las siguientes técnicas basadas en PCR: RFLP del gen de la coagulasa, REP PCR con el primer RW3A, RAPD y amplificación de la región X de la proteína A.

Los clones predominantes se compararon mediante las cuatro técnicas con los clones Portugués, Ibérico y Brasileño obtenidas del ATCC.

Resultados: 50 cepas pertenecen al clon A y 20 cepas pertenecen al clon B mediante RFLP, REP PCR, RAPD y PCR de la Proteína A. 4 cepas pertenecen al clon B mediante REP PCR, RAPD, y pertenecen al clon C mediante RFLP y PCR de la Proteína A. 19 cepas son esporádicas. No se identifica ninguno de los clones epidémicos aislados con los clones Brasileño, Portugués e Ibérico.

Conclusiones: En el área sur de Pontevedra no nos encontramos con los clones epidémicos descritos en España y Portugal. El gen *coa* es un excelente marcador para estudios evolutivos a corto plazo. En tanto que REP-PCR sería más adecuado para analizar la variabilidad genética en períodos de tiempo más largos. Proponemos utilizar RFLP y REP PCR para estudios epidemiológicos. Ambos métodos son sencillos, baratos y rápidos.

051

UTILIDAD DE LA REP-PCR EN S. AUREUS COMO MARCADOR EPIDEMIOLÓGICO

J.M. Sierra, J. Vila y M.T. Jiménez de Anta

ICII, Institut Clínic Infeccions i Immunologia, Hospital Clínic-IDIBAPS Barcelona.

Objetivos: Establecer una técnica rápida para el tipaje de *Staphylococcus aureus*, sensibles o resistentes a la meticilina, basada en la REP-PCR en comparación con la técnica de digestión genómica con enzimas de baja frecuencia de corte y electroforesis en campo pulsado (PFGE).

Material y métodos: Se han estudiado un total de 22 cepas de *S. aureus*, 13 de ellas resistentes a la meticilina (SARM) y 9 sensibles a la meticilina (SASM). PFGE: se realizó la digestión del cromosoma mediante el enzima de baja frecuencia de corte *Sma* I y electroforesis con pulsos de 5 seg a 40 seg durante 20 h a 200V (DR II apparatus Bio-Rad).

Extracción de ADN: se obtuvo el ADN de las cepas mediante una extracción de ADN cromosómico (Wizard Genomic DNA purification KIT). Posteriormente se cuantificó el ADN presente en cada extracción a 260 nm.

REP-PCR: Para normalizar el inóculo se partió de 500 ng de ADN para cada reacción. Las concentraciones finales fueron las siguientes tampón de pH 1x, dinucleótidos 0,2 mM, cebador 1,5 μ M y finalmente 2,5 unidades de Taq polimerasa.

Resultados: El análisis del PFGE permitía agrupar los SARM en dos clones, un primer clon con 4 cepas y un segun-

do con 9 cepas, con variaciones de hasta tres bandas dentro de cada clon, mientras que entre los SASM obtenemos 7 clones distintos, representados 1 clon con tres cepas mientras los restantes 6 los representa una sola cepa. Por el contrario al analizar la REP-PCR, entre los SARM encontramos 2 clones bien diferenciados, mientras que el análisis de los SASM por REP-PCR solo nos permite diferenciar 4 clones.

Conclusión: La REP-PCR es un método más rápido y fácil que el PFGE, y presenta un poder de discriminación similar al PFGE para el análisis de SARM y un menor poder de discriminación para el análisis de SASM. Dicha técnica sería útil para la investigación inicial de un posible brote epidémico por SARM.

052

EFFECTO DE LOS DÍAS TRANSCURRIDOS EN INGRESOS ANTERIORES SOBRE EL AISLAMIENTO DE *S. AUREUS* OXACILINA RESISTENTE

M.T. Bastida, R. Porrón, F. Nonell, M. Expósito, MA. Ruíz, M. García y M. Torres

Hospital de l'Esperit Sant. Santa Coloma de Gramenet. Barcelona.

Objetivo: Comparar el grupo de 21 enfermos en los que se aisló *S. aureus* resistente a la oxacilina (SARO) con los 65 pacientes de los que se aisló *S. aureus* sensible a la oxacilina (SA-SO), en el curso de un brote de infecciones por SARO en un Hospital Comarcal sin UCI, de junio de 2000 a junio de 2001.

Métodos: Se estudiaron en ambos grupos variables cuantitativas: edad y los días transcurridos antes del aislamiento incluyendo ingresos anteriores en los últimos tres años (DP) y variables dicotómicas: edad > 64 a, DP > 14 d, tener EPOC, neoplasias, diabetes, inmunosupresión por corticoides o sida, llevar sonda, cirugía previa relacionada con el aislamiento, antibioticoterapia previa, aislamiento a partir de muestras no cutáneas, infección nosocomial (INC) y ingreso en servicios quirúrgicos y en la planta 1ª en caso de INC. Se usó la T student para comparación de medias en variables cuantitativas y la χ^2 para las dicotómicas. Se hizo un estudio multivariante de todas las variables dicotómicas por regresión lineal paso a paso.

Resultados: Hubo diferencias significativas entre los promedios de edad ($77,5 \pm 12,2$ vs $52,3 \pm 21,1$ p = 0,001) y en DP ($40,7 \pm 48,8$ vs $8,2 \pm 11$ p < 0,001), y en los porcentajes de edad > 64 a (80,9 vs 32,3 p < 0,001), DP > 14 d. (71,4 vs 18,5 p < 0,001), tener EPOC (28,6 vs 6,2 p = 0,01), llevar sonda (47,6 vs 16,9 p = 0,01), aislamiento a partir de muestras no cutáneas (70,8 vs 42,8 p = 0,04) y ingreso en servicios quirúrgicos en caso de INC (60 vs 89,7 p = 0,02).

El estudio multivariante de todas las variables dicotómicas por regresión lineal paso a paso dio como variables predictoras para aislar SARO: EP > 14 d, edad > 64 a, tener EPOC y padecer neoplasia, en este orden.

Conclusiones: El número de días acumulado en ingresos anteriores, ha influido fuertemente y independientemente en el aislamiento de un SARO, lo cual es de esperar en situación de brote intrahospitalario y apoya el hecho de que la colonización precede la aparición de la infección por SARO. Como medida preventiva en situación de brote es aconsejable realizar frotis nasal a los pacientes que cumplen este factor de riesgo y reingresan.

053

INCIDENCIA Y SIGNIFICADO CLÍNICO DE LOS AISLADOS DE *STAPHYLOCOCCUS COAGULASA* NEGATIVO EN HEMOCULTIVOS

S. Cercenado, M. Rodríguez-Creixems, E. Cercenado y E. Bouza
S. Microbiología y E. Infecciosas. H. Gregorio Marañón. Madrid.

Objetivo: Estudiar prospectivamente el significado de todos los aislados de *Staphylococcus coagulasa* negativo (SCN) en hemocultivos en un hospital general.

Métodos: Durante un período de ocho meses, todos los pacientes adultos ingresados a los que se les extrajeron durante el episodio sospechoso de bacteriemia tres "sets" de hemocultivos y en los que se aisló al menos en uno de ellos un SCN, fueron seguidos prospectivamente. Se establecieron criterios clínicos para diferenciar bacteriemias significativas y no significativas. Un episodio fue considerado clínicamente significativo en base a la existencia de fiebre, presencia de material extraño, ausencia de otras causas de infección y respuesta al tratamiento antimicrobiano y/o retirada de la fuente de infección.

Resultados: Durante el período de estudio, 486 pacientes tuvieron uno ó más "sets" de hemocultivos con crecimiento de SCN. De ellos, 393 (81%) tuvieron 1 solo "set" positivo, y 93 (19%) tuvieron 2 ó más "sets" con aislamiento de SCN. Tras su seguimiento prospectivo solo 69 pacientes (14,2%) presentaron una bacteriemia verdadera, el resto se consideraron hemocultivos contaminados. En 4 pacientes SCN se aisló tan solo en 1 de los 3 "sets" de hemocultivos, el resto tenían 2 o más "sets" con SCN. El origen de la bacteriemia fue en el 95% de los casos la presencia de catéter intravascular, y la documentación microbiológica del foco de infección se confirmó en el 63,7% de los casos.

Conclusiones: El número de SCN aislados de hemocultivos con significación clínica es muy bajo; solo el 14,2% del total de SCN aislados representa verdadera bacteriemia. No siempre el aislamiento de SCN en 1 de 3 hemocultivos representa contaminación. Los criterios microbiológicos que desde el laboratorio se utilizan para diferenciar bacteriemia significativa de bacteriemia no significativa basados en el número e identidad de los aislados se aproximan a la realidad.

054

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN CEPAS INVASIVAS DE *S. AUREUS* EN ESPAÑA EN 2000: SISTEMA EUROPEO DE VIGILANCIA EARSS

S. Cruchaga*, J. Oteo*, J.A. Saez*, J. Campos*, F. Baquero**, Grupo de EARSS España

CN de Microbiología, ISC III*. H. Ramón y Cajal**. Madrid.

Introducción: La C.E. fundó en 1998 la Red Europea para el control de la resistencia a antibióticos (ABs) en patógenos invasivos (EARSS). Presentamos los datos de *S. aureus* obtenidos en España en 2000.

Material y métodos: Participaron 31 hospitales con representación proporcional de las principales regiones españolas (cobertura poblacional aproximada de 9 millones de personas). Cada laboratorio aisló, identificó y estudió la sensibilidad con sus métodos de rutina. El control de calidad fue realizado por NEQUAS. Se rellenó un protocolo por cada aislamiento/paciente en el constaban datos clínicos, del hospital y servicio en el que se realizó el aislamiento así como de su sensibilidad.

Resultados: En 903 pacientes se aisló *S. aureus* invasivo. La incidencia media fue de 1,52/1.000 ingresos (rango de 0,3-6,77 casos/1.000; 95% I.C. = 1,1-1,95).

El 30,7% fueron resistentes (R) a Oxacilina (OXA); el 27,7% a Ciprofloxacino (CIP); el 23,5% a Eritromicina (ERI), y el 18,5% a Gentamicina (G). Según la R/S a OXA, el % de cepas R a CIP, ERI y G fue 89,3/3,3; 80/18,8 y 56,2/3,5, respectivamente (p < 0,001). El patrón de multiresistencia más frecuente fue el OXA-ERI-CIP-G (14,3% de las cepas en las que se estudiaron los 4 antibióticos); seguido del OXA-ERI-CIP (7,3%). La R a OXA en pacientes ingresados en la UCI fue de 44,5% y en los ingresados en otras unidades fue de 27,4% (p < 0,001). No se encontraron cepas con disminución de sensibilidad a vancomicina.

Conclusiones: 1) Se ha observado una prevalencia elevada de R a OXA, CIP, ERI y G en las cepas invasivas de *S. aureus* en España 2) La mayoría de las cepas R a OXA fueron multiresistentes. 3) Entre las cepas resistentes a OXA, el 43,7% fueron sensibles a Gentamicina. 4) La R a OXA y la

multirresistencia fueron más frecuentes en pacientes ingresados en UCI. 5) EARSS es una Red eficaz para la vigilancia comparada a nivel nacional y europeo de la R a ABs en patógenos invasivos.

055

TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR *S. AUREUS* RESISTENTE A METICILINA (SARM) CON LINEZOLID

L. Ferrer, J. de Otero, S. Elía¹, M. Sandiumenge, M. Puig² y F. Ferrer-Ruscalleda

Servicio Medicina Interna y ¹Microbiología, H. Creu Roja Barcelona, ²Dp. Medicina, Pharmacia Spain SA.

La infección por SARM es un grave problema en los hospitales por su alta prevalencia y por su repercusión en los costes. La aparición de nuevos antimicrobianos como linezolid abre nuevas posibilidades terapéuticas.

Objetivos: Analizar el impacto de linezolid en el tratamiento de la infección por SARM comparado con los glicopéptidos. Efecto de linezolid sobre la tasa de mortalidad, número de ingresos y días de estancia hospitalaria.

Métodos: Estudio prospectivo de pacientes con infección por SARM ingresados de enero-2000 a octubre-2001 en nuestro hospital, excluyendo portadores asintomáticos no infectados o fallecidos en el primer ingreso. Se realizaron controles periódicos consistentes en seguimiento clínico y cultivos de control. Se analizaron las diferencias entre linezolid y glicopéptidos mediante pruebas de ANOVA y correlación de Spearman.

Resultados: Se identificaron 36 pacientes: edad mediana 73,9 a (48-95), 19 (52,7%) eran mujeres, 66% presentaban infección de tejidos blandos, 11% respiratoria, 11% cardiovascular y 8% herida quirúrgica. Nueve pacientes recibieron linezolid con buena tolerancia. En este grupo la estancia media de ingreso tras diagnóstico de la infección por SARM fue de 10,3 días, y en el seguimiento 5 pacientes reingresaron, 4 eran portadores persistentes, ninguno falleció y 3 precisaron soporte de necesidades básicas. Linezolid redujo la estancia hospitalaria: 10,3 d vs. 23,8 (p = 0,01); redujo el número de portadores persistentes: 4 vs. 12 (p = 0,045); y manifestó una tendencia a disminuir la tasa de mortalidad (p = 0,079) en relación con el tratamiento con glucopéptidos. El análisis multivariado objetivó un efecto independiente de linezolid en la reducción de la estancia hospitalaria (p = 0,008).

Conclusiones: Linezolid redujo la estancia hospitalaria de los infectados por SARM, redujo el número de portadores persistentes, y ofreció ventajas en el tratamiento de esta infección comparado con los glicopéptidos. Fue muy bien tolerado con escasos acontecimientos adversos.

056

ANÁLISIS FARMACOECONÓMICO DE LINEZOLID PARA TRATAR INFECCIONES DE PIEL Y TEJIDOS BLANDOS CAUSADAS POR SARM

J.M. Aguado¹, A. Domínguez-Gil², J. Soto³ y E. Montull³

¹H. 12 de Octubre, ²H. Clínico de Salamanca, ³Pharmacia, S.A.

Linezolid (L), un nuevo antibiótico activo frente a los SARM y con una presentación oral, ha demostrado una eficacia clínica similar a vancomicina (V) en el tratamiento de infecciones complicadas de piel y tejidos blandos (IPTB) causadas por SARM.

Objetivo: Efectuar una evaluación económica del uso de Linezolid *versus* Vancomicina en el tratamiento de IPTB producidas por SARM.

Material y método: Se ha efectuado un análisis de minimización de costes. Los datos de consumo de recursos tras el uso de ambos productos, se han obtenido de artículos publicados, habiéndose incluido sólo los costes médicos directos.

El coste de adquisición de los dos medicamentos se ha obtenido de fuentes oficiales, mientras que los costes de hospitalización (9 días para L y 14 para V), analíticas y administración de ambos compuestos se han sacado de la base de datos de costes sanitarios de Soikos.

La perspectiva elegida para el análisis es el hospital y el horizonte temporal elegido ha sido de 14 días, duración de los ensayos clínicos efectuados.

Resultados: En la siguiente tabla se detallan los recursos consumidos y los costes resultantes de administrar L ó V en cada paciente (pesetas y euros)

Costes	Linezolid	Vancomicina
Adquisición antibiótico	295.820 (1.778 #)	64.450 (387 #)
Días de hospitalización	405.000 (2.434 #)	630.000 (3.786 #)
Administración intravenosa	2.700 (16 #)	16.520 (99 #)
Niveles plasmáticos	0 (0 #)	5.000 (30 #)
Analíticas	1.000 (6 #)	2.000 (12 #)
Coste total/paciente	704.520 (4.234 #)	717.970 (4.315 #)

Conclusiones: El uso de Linezolid frente a Vancomicina en el tratamiento de IPTB causadas por MRSA, va a ahorrar recursos al Sistema Nacional de Salud, ya que va a producir similares resultados clínicos con menores costes asociados, con un incremento en la calidad de vida del paciente derivado de poder finalizar el tratamiento antibiótico en su domicilio

057

VARIABILIDAD FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA EN DOS CASOS DE INFECCIÓN ENDOVASCULAR (IEV) POR *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*

M. Domínguez, C. Peña, M. Gamarra, F. Tubau, J. Liñares y R. Martín

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

Los estafilococos coagulasa negativa asociados a IEV pueden pertenecer a distintas poblaciones bacterianas (policlonalidad), o bien, una misma población puede sufrir cambios fenotípicos o genotípicos durante la infección.

Objetivo: Estudiar el fenotipo y genotipo de cepas de *S. epidermidis* (Sepi) aisladas en dos pacientes con infección endovascular.

Métodos: Se estudiaron 23 cepas de Sepi obtenidas de los dos pacientes estudiados. La identificación de los aislamientos se realizó mediante el sistema ID32Staph y pruebas bioquímicas adicionales. La sensibilidad antibiótica fue estudiada por disco-difusión y microdilución, y se aplicaron los puntos de corte del NCCLS. La resistencia a oxacilina (Oxa) se confirmó por E-test y PCR del gen *mecA*. El estudio genotípico se realizó mediante electroforesis en campo pulsado (ECP).

Resultados: Paciente 1.- Paciente diagnosticado de endocarditis protésica tardía. En 6/8 hemocultivos (HC), antes de recibir antibióticos, se aisló Sepi. Todas las cepas tenían una CIM a Oxa de 0,75 µg/ml, excepto una cepa con CMI de 8 µg/ml y resistente, además, a eritromicina y clindamicina. La PCR del gen *mecA* fue positiva en todos los aislamientos e, independientemente del perfil de sensibilidad antibiótica, el ECP fue idéntico. Paciente 2.- Paciente diagnosticado de endocarditis sobre cable de marcapasos. En 6/6 HC, extraídos sin admón. previa de antibióticos, se aisló Sepi sensible a todos los antibióticos. Todas las cepas presentaron el mismo ECP (A). También se aisló Sepi en un nuevo HC obtenido en el 5º día de tto. (penicilina+ gentamicina) y en las muestras quirúrgicas (cable marcapasos, vegetación tricuspídea); todos estos aislamientos fueron también sensibles a todos los antibióticos, pero, de un ECP distinto (B) al de los aislamientos pretratamiento antibiótico.

Conclusiones: Es posible que un mismo clon de Sepi, causante de infección de cuerpo extraño, pueda mostrar distin-

tos fenotipos. Asimismo, cepas de *Sepi* pueden mostrar cambios genéticos durante la infección sin implicar diferencias en la sensibilidad antibiótica.

058

PRESENCIA DE OPERÓN ICA (ICA+) EN *S. EPIDERMIDIS* CAUSANTES DE BACTERIEMIA DE ORIGEN EN UN CATÉTER Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA A LA OXACILINA

J.M. Sierra, A. Soriano, M. Almela, C. García de la Mària, Y. Armero, J.A. Martínez, C. Melción, F. Marco, J. Mensa y J. Vila
ICII, Hospital Clínic Barcelona.

Objetivos: Analizar la frecuencia de ica+ en cepas de *S. epidermidis* patógenas y evaluar su relación con la resistencia a oxacilina.

Material: Se estudiaron 26 cepas aisladas de pacientes con bacteriemia primaria de origen en un catéter (dos hemocultivos y cultivo del catéter positivo para *S. epidermidis* con el mismo antibiograma).

Métodos: La identificación de las cepas de estafilococo se realizó mediante métodos convencionales (ID 32 STAPH bio-Mérieux). La detección de cepas ica+ se obtuvo mediante amplificación por PCR de un fragmento de 460 pb del operón ica. La expresión fenotípica de exopolisacárido (slime) se realizó mediante la técnica del agar rojo congo. La sensibilidad a la oxacilina se realizó según método de difusión en agar a partir de disco siguiendo los criterios del NCCLS.

Resultados: 16 de las 26 cepas fueron ica+ (61,5%), 20 cepas resistentes a la oxacilina (76,9%), 14 de estas 20 cepas resistentes a la oxacilina fueron ica+ (70%) y 6 ica- (30%). Por el contrario entre las 6 cepas sensibles a la oxacilina sólo 2 fueron ica+ (33%) y las 4 restantes ica- (67%). La comparación de proporciones mediante un test exacto de Fisher mostró una ligera tendencia a la significación ($p = 0,1$). Catorce de 26 cepas mostraron producción de slime (53,8%), mientras que el resto (46,2%) no mostraron esa capacidad. De las cepas productoras de slime 12 fueron ica+ (85,7%) y 2 ica- (14,3%).

Conclusiones: La frecuencia de cepas ica+ en *S. epidermidis* causantes de bacteriemia es del 61,5%, siendo un 53,8% las cepas productoras de slime.

Además encontramos una mayor frecuencia de cepas ica+ entre aquellas con resistencia a la oxacilina (70% frente a 33% en oxacilina sensibles), hallazgo no significativo debido al pequeño número de cepas analizadas, pero de gran importancia si se confirma, ya que la resistencia se asociaría a un factor de patogenidad. Es interesante destacar el 14,3% de cepas ica- slime+, lo que sugiere el papel de otros factores en la producción de slime.

059

EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON ONDAS DE CHOQUE SOBRE BIOFILMS Y SUSPENSIONES ESTAFILOCÓCICAS

M. Monzón, J.E. Robles*, J. Leiva* y B. Amorena
Clínica Universitaria de Navarra (Pamplona) y CSIC - Servicio de Investigación (DGA - Zaragoza).*

Introducción y objetivos: El propósito de este trabajo era determinar si las ondas de choque poseen una capacidad bactericida sobre biofilms y/o bacterias libres que pudieran estar causando una infección crónica, tanto en el lugar donde se enfocara el tratamiento, como en cualquier otra parte del cuerpo del paciente a tratar.

Material y métodos: Se utilizó una cepa de *Staphylococcus aureus* altamente adherente para preparar las suspensiones bacterianas, así como para el desarrollo de biofilms sobre una superficie de acero inoxidable. Los tratamientos con el

litotriptor (Lithostar – Plus®, Siemens), diferían en el voltaje (15,4, 16,3 y 18,4 kV) y en el número de disparos a los que era sometida la muestra (1000 y 2000 en el caso de las tres intensidades, y hasta 3000 cuando el voltaje era 18,4 kV).

Resultados: La eficacia del tratamiento (medida según el porcentaje de reducción de cfu conseguido con cada uno de ellos) no aumentó siempre que aumentaba el nivel de energía y el número de disparos. Con respecto a las bacterias en biofilm, los tratamientos consistentes en 1000 o 2000 disparos y un voltaje de 16,3 kV resultaron los más efectivos (97,32% de reducción), seguido de los tratamientos con 2000 disparos a 18,4 kV, 1000 disparos a 15,4 kV, 3000 disparos a 18,4 kV, 2000 disparos a 15,4 kV y 1000 disparos a 18,4 kV, con un porcentaje de reducción de cfu en biofilm de 94,64, 92,86, 91,96, 90,18 y 80,27, respectivamente. Frente a las suspensiones bacterianas, 2000 disparos con un voltaje de 16,3 kV y 1000 con 15,4 kV alcanzaron los mejores resultados consiguiendo las mayores reducciones de cfu (83,65% y 76,26%, respectivamente).

Conclusiones: Por lo tanto, el tratamiento más eficaz, tanto frente a las bacterias libres, como las que se encuentran adheridas formando biofilms, fue el que consistía en 2000 disparos a 16,3 kV. Además, el conjunto de estos resultados proponen la ampliación de los estudios de aplicación de las ondas de choque como posible tratamiento alternativo frente a las infecciones crónicas.

060

SEPSIS DE CATÉTER POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*. ¿ES SIEMPRE NECESARIO EL ESTUDIO ECOCARDIOGRÁFICO?

C. Pigrau, D. Rodríguez, B. Almirante, N. Larrosa, E. Ribera, A.M. Planes, J. Gavalda y A. Pahissa

Hospital Universitario Vall d'Hebron. Barcelona.

La incidencia de endocarditis infecciosa (EI) por *S. aureus* originada a partir de la infección de un catéter endovascular es del 23% según Fowler et al si los pacientes son correctamente estudiados. El objetivo del trabajo es describir la aparición de EI en pacientes con sepsis de catéter por *S. aureus*, tratados durante 10-14 días y seguidos durante 1 año.

Métodos: Revisamos todas las bacteriemias por *S. aureus* diagnosticadas en nuestro centro durante un periodo de dos años (1997-98). Los pacientes adictos a drogas por vía parenteral fueron excluidos. Se evaluaron los posibles focos de origen, factores predisponentes y signos clínicos de EI. Los pacientes fueron seguidos un año para evaluar la recidiva de la sepsis y el desarrollo de endocarditis.

Resultados: Identificamos 130 pacientes que presentaron 135 episodios de sepsis de catéter por *S. aureus*. El 70% (91) eran varones y la edad media fue de 61 ± 16 años. El 80,7% (109) fueron nosocomiales y de ellas 54 (40%) fueron de catéter, 42 tuvieron otro foco diferente y 13 (9,6%) fueron bacteriemias primarias (BP). Se diagnosticó EI en 2/13 (15,3%) de las BP, y en 3/54 (5,4%) de las sepsis por catéter. Las cinco EI fueron diagnosticadas durante el episodio agudo, dos por fiebre persistente tras iniciada la antibioticoterapia y 3 por la presencia de metástasis sépticas. De las 11 BP y 51 sepsis de catéter restantes, 18 fallecieron durante el episodio agudo: 9 por sepsis (media: 1 d) y 9 por la enfermedad de base (media: 14 d). De los 41 supervivientes, 39 se siguieron durante 1 año y ninguno desarrolló una EI.

Conclusiones: En las sepsis de catéter o BP por *S. aureus* sin sospecha clínica de EI no es necesaria la práctica rutinaria de un ecocardiograma, ya que no hemos detectado recidivas. Aunque algunos pacientes pueden estar afectados de una EI subclínica, 10-14 días de tratamiento antibiótico podrían ser suficientes. En pacientes con factores de riesgo de EI (fiebre persistente, valvulopatía o focos metastásicos) está indicado un ecocardiograma transesofágico ya que la incidencia de EI en este colectivo fue del 45%.

061

INFECCIÓN ASOCIADA A CATÉTER VENOSO CENTRAL EN UNA UCI DE TRAUMATOLOGÍA

A. Gasch, M. Conde, M.J. Pereira, R. Valencia, B. Mahillo, M. Ruiz, J.M. Flores y V. Jorge
Serv. Med. Preventiva y S. P. - H.U. Virgen del Rocío.

Objetivos: 1) Conocer la tasa de infección asociada a catéter venoso central en la UCI de Traumatología de los HH.UU. Virgen del Rocío. 2) Describir las características de la infección asociada a catéter.

Métodos: Estudio prospectivo, durante el segundo trimestre del año 2001, de todos los catéteres venosos centrales colocados más de 24 h.

Resultados: Entraron en el estudio 150 pacientes con un total de 345 catéteres colocados (71% hombres, edad media de 44 años). La incidencia acumulada de infección/colonización fue de 12,17% (densidad de incidencia = 1,82%). Las tasas de incidencia se repartieron como sigue: colonización = 6,4%, infección local = 1,2%, bacteriemia = 1,5%, infección general sin bacteriemia o sospecha clínica = 3,2%. El microorganismo aislado más frecuentemente fue *A. baumannii* (32%), seguido por *S. aureus* (14,6%), *S. epidermidis* (12,2%) y *Pseudomonas aeruginosa* (9,8%). El riesgo de infección no mostró asociación con la presencia de inmunosupresión ni el tipo de ingreso (médico, quirúrgico, traumatológico, quemado). Sí se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre la presencia de infección y a) la procedencia del paciente (los que proceden del domicilio se infectan con más frecuencia), b) el lugar de colocación (inserción periférica: 7,4%, subclavia: 10,5%, femoral: 22,4%, yugular: 26,3%) c) el número de lúmenes (infección más frecuente en los de más de una luz: OR = 2,6 [1,21-5,73]) y d) el índice de gravedad (OR = 5 para APACHE > mediana (= 13) respecto a APACHE ≤ mediana).

Conclusiones: Los factores que parecen estar relacionados con la infección dependen tanto del uso y manipulación de los catéteres, como de las características clínicas de los pacientes (especialmente del estado de gravedad). A la vista de los microorganismos aislados, la puesta en marcha de un programa específico de prevención de la transmisión cruzada de microorganismos podría reducir considerablemente las tasas de incidencia.

062

INFECCIONES DE CATÉTER (IRC) EN UNA UCI DE CIRUGÍA CARDÍACA. VALOR PREDICTIVO DE LOS CULTIVOS DE VIGILANCIA

J. López, P. Muñoz, M.J. Pérez, MC. Rincón, P. Martín-Rabadán, C. Sánchez, J.L. Vallejo, E. Bouza y Grupo de Infección Cardiovascular

H.G.U. Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca precisan una media de 5 catéteres por paciente y tienen un alto riesgo de padecer graves complicaciones asociadas a su infección. Nuestros objetivos fueron: definir la incidencia de IRC en esta población y analizar el valor predictivo de los cultivos superficiales (piel y conexión) en la anticipación de la infección.

Método: Se incluyeron los 328 pacientes sometidos a cirugía cardíaca durante un período de 10 meses. Se cultivaron las puntas de todos los catéteres y se realizaron cultivos superficiales (conexiones y piel) de los que se mantuvieron más de 5 días.

Resultados: Se estudiaron 1.589 catéteres con una exposición global de 7.148 días-catéter. La densidad de incidencia de IRC fue de 32,3/1.000 días/catéter. Los microorganismos más frecuentes fueron: SCN (75%), *E. faecalis* (5%) y *S. marcescens* (2,6%). Efectuamos cultivos superficiales (CS) en 453 catéteres (901 pieles y 1.800 conexiones), con una media de 6 parejas de CS por catéter. Resultaron positivas 140 pieles

(31,6%) y 45 conexiones (10%). Globalmente, el VPP y VPN de los CS fue del 57% y 93% respectivamente. Los CS inmediatamente anteriores a la retirada del catéter alcanzaron un VPP del 62% y un VPN del 92%. Estas cifras no variaron en relación al motivo de retirada del catéter, incluyendo la sospecha de infección. La eficacia de los cultivos de las conexiones mejoró con el tiempo de permanencia del catéter: primer cultivo VPP 45% y VPN 72% y último cultivo VPP 66% y VPN 85%. Por el contrario, la eficacia del cultivo de la piel decreció con el tiempo: primer cultivo VPP 47% y VPN 86% y último cultivo: VPP 25% y VPN 33%.

Conclusión: A pesar del alto VPN de los CS, la carga de trabajo para microbiólogos y clínicos y la información que proporcionan no justifica su inclusión rutinaria en la sistemática diagnóstica de los enfermos ingresados en UCIs de cirugía cardíaca.

063

COMPLICACIONES INFECCIOSAS ASOCIADAS AL USO DE CATÉTERES VENOSOS CENTRALES: ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN

M. Navarro, G. Serrate, M. Canals, M. Sampere, C. Carod y F. Segura

Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell. Barcelona.

Objetivo: Determinar la incidencia de bacteriemia asociada al uso de catéteres venosos centrales (CVC) como valoración cualitativa de la aplicación de un protocolo de inserción, mantenimiento y cuidados de dichos catéteres.

Métodos: Evaluación prospectiva de todos los pacientes adultos hospitalizados en las unidades médico-quirúrgicas (excepto UCI) portadores de CVC. Variables: 1) edad 2) catéteres: tipo, lugar y motivo de inserción, días de cateterización, motivo de retirada 3) Microbiológicos: hemocultivo y cultivo catéter. 4) complicaciones infecciosas: infección punto de inserción, tromboflebitis, bacteriemia por catéter y sepsis relacionada.

Resultados: 531 pacientes (edad media 63 ± 18) con 578 CVC. Días cateterización 12,2 ± 10,4. Un 63,8% (n = 369) eran CCIP (catéter central de inserción periférica). Motivo inserción: Tto. endovenoso 53,6%, control hemodinámico 34,2% y 12% nutrición parenteral (NTP). 9,5% se retiraron por sospecha de infección. Bacteriemia por catéter (n = 9) 1,55% (1,28/1000 días de cateterización). No se produjo bacteriemia por catéter en ninguno de los 369 CCIP. El análisis univariado mostró que estas complicaciones se asociaban con mayor frecuencia a edad avanzada (p = 0,04), uso CVC (p < 0,001) y administración de NTP (p < 0,001), aunque la NTP fue el único factor asociado a bacteriemia o sepsis relacionada (OR 31,9; IC 8,33-122; p < 0,005).

Conclusiones: 1) En las unidades de hospitalización convencional la utilización de barreras estériles amplias y un programa educacional son un pilar básico para el control de la bacteriemia asociada a catéter, 2) La baja tasa de infección de los CCIP hacen recomendable potenciar su uso como medida preventiva de bacteriemia por catéter. 3) La nutrición parenteral es un factor de riesgo independiente para la bacteriemia en nuestro trabajo.

064

VALORACIÓN DE UN NUEVO CONECTOR EN LA PROFILAXIS DE LA BACTERIEMIA RELACIONADA CON CATÉTER

J.C. Yebenes, J.A. Capdevila, L. Vidaur*, R. Martínez, M. Serra-Prat, J.M. Sirvent* y G. Sauca, A. Bonet*, X. Balanzó y M. Palomar**

Hospitales de Mataró, Girona y Vall d'Hebrón**.*

Objetivo: Valorar la eficacia de un nuevo conector sin aguja desinfectable (Smarsite®) en la prevención de la bacteriemia por catéter (BC).

Métodos: La evaluación *in vitro* ha utilizado un modelo de botella consistente en la inserción de un catéter de 18G (Venflon®) de forma aséptica a través del tapón de las botellas de hemocultivo aeróbico (Bact Alert®). Para cerrar los catéteres se utilizó Smarsite® o los tapones habituales. Periódicamente se contaminó la superficie externa del tapón o de los conectores con *S. aureus* ATCC 25923, y diariamente se evaluaba el número de botellas contaminadas tras la infusión de 1 ml. de suero salino a través del catéter. La evaluación *in vivo* consistió en un ensayo prospectivo, randomizado y controlado que comparaba la incidencia de BC en pacientes críticos portadores de un catéter central multilumen entre dos grupos: Smarsite® vs. Control (llave de tres pasos). Los conectores Smarsite® fueron desinfectados con alcohol al 70%, mientras que el grupo control fue manipulado de acuerdo con las recomendaciones de los CDC.

Resultados: Estudio *in vitro*; 20 catéteres fueron evaluados en cada grupo. En el día 9 del experimento, 8 de 20 (40%) catéteres con Smarsite® presentaron contaminación de la botella en comparación con el 100% del grupo control ($p < .0001$). Estudio *in vivo*; 278 cateterización (243 pacientes), 139 en cada grupo (total días de cateterización: 2742) fueron evaluados. La densidad de incidencia de BC fue de 5.0/1000 días de cateterización en el grupo control vs. 0.7/1000 días en el grupo de estudio con Smarsite®, odds ratio de 11,97 (95% CI, 1,26-113,51; $p = 0,03$). Los microorganismos implicados fueron: estafilococo coagulasa negativo (3 casos), *S. faecium* (2), *S. aureus* (1), *K. oxytoca* (1) y *E. aerogenes* (1).

Conclusión: El conector Smarsite® comparado con la llave de tres pasos es útil en la prevención de la bacteriemia por catéter.

065

PROFILAXIS DE LAS INFECCIONES RELACIONADAS CON CATÉTERES VENOSOS CON EL DISPOSITIVO SEGUR LOCK. SEGURIDAD DE USO

M. Segura^a, C. León^b, F. Álvarez^a, S. Ruiz^c, M. Nolla^d y F. Sánchez-Franco^e

Hospitales Mar^a, Valme^b, Dr. Negrín^c, General Catalunya^d y Carlos III^e.

El Segur lock (SL), dispositivo compuesto de una cámara antiséptica yodada que se coloca en la conexión de los catéteres, se ha mostrado eficaz en la profilaxis de las infecciones relacionadas con CVC, tanto *in vitro*, como *in vivo* y en dos estudios clínicos. Sin embargo, es sabido que los desinfectantes yodados tienen el potencial peligro de contaminar a los pacientes con yodo, tras su uso repetido y causar alteración de la función tiroidea. El **objetivo** del estudio fue conocer si en condiciones extremas de uso se producía alguna alteración en la función tiroidea.

Pacientes y métodos: Estudio multicéntrico, prospectivo en 4 UCIs españolas, en pacientes con CVC bilumen o trilumen, de > 5 días de duración, randomizados en proporción 2:1 a Grupo Segur-Lock (GSL) o Grupo control sin SL (GC), respectivamente. Se excluyeron los pacientes con alteraciones tiroideas o que tomaran medicamentos con compuestos yodados 3 meses antes. Se practicó determinación en sangre, antes de colocar el catéter (basal) y cada 2 días hasta su retirada, de: TSH, T4, T3, T4 libre y autoanticuerpos tiroideos (TPO y tiroglobulina). Se controló el número de manipulaciones diarias y totales de la conexión.

Resultados: 54 pacientes, 36/GSL y 18/GC. No hubo diferencias entre grupos respecto al % varones (69,4 vs. 61,1), edad (57,4 vs 62,4), días de cateterización (10,8 vs. 9,0) o APACHE II (14,4 vs. 14,2). La media del número total de manipulaciones en el GSL fue de 35,9 (rango 5 a 96) y un promedio de 3,6 por día de cateterización (rango 0,8 a 8,0). No hubo diferencias significativas entre ambos grupos de los valores hormonales ni en condiciones basales (T4 = 5,9/5,8 µg/dl; T3 = 86,1/79,7 ng/dl; T4 libre = 0,87/0,81 ng/dl; TSH = 1,6/1,5 mU/l), ni al final del estudio (T4 = 7,0/8,0 µg/dl; T3 = 113/105 ng/dl; T4 libre = 0,97/0,92 ng/dl; TSH = 2,3/2,7

mU/l). Tres pacientes fueron TPO (1/GSL, 2/GC) y 1 antitiroglobulina (GC) positivos en condiciones basales y ninguno de los negativos se tornó positivo al final del estudio.

Conclusión: El uso del conector desinfectante en el paciente crítico es seguro.

066

TRATAMIENTO CONSERVADOR DE LA INFECCIÓN ASOCIADA A CATÉTER (IAC) MEDIANTE SELLADO ANTIBIÓTICO EN PACIENTES AMBULATORIOS. ANÁLISIS DE 10 CASOS

J.L. Del Pozo, M. Lamata, M. Soler, R. Arrieta* y J. Leiva
Servicio de Microbiología. *Servicio de Farmacia. Clínica Universitaria de Navarra.

Objetivos: Estudiar la eficacia y complicaciones del sellado antibiótico (SA) en el tratamiento de la infección asociada a catéter venoso central tunelizado (CVCT), así como la posibilidad de emplear este procedimiento de forma ambulatoria.

Material y métodos: Presentamos una serie de 10 pacientes portadores de un CVCT con una media de 30 meses de uso del catéter. Seis de los pacientes tenían una neoplasia de órgano sólido como enfermedad de base, dos de ellos una neoplasia hematológica, uno de ellos una epilepsia rebelde al tratamiento y otro de ellos era una trasplantada cardíaca. El diagnóstico de la infección asociada a catéter (IAC) se realizó en todos los casos mediante la extracción de hemocultivos cuantitativos (Isolator, Wampole OXOID) a través de vena periférica y del CVCT de forma simultánea. Los microorganismos aislados fueron *Staphylococcus epidermidis* (8), *Propionibacterium acnes* (1), *Enterobacter cloacae* (1), *Pseudomonas mendocina* (1), *Corynebacterium propinquum* (1), *Staphylococcus aureus* (1). El SA se realizó con una mezcla de heparina sódica y, o bien vancomicina (2 mg/ml), o gentamicina (2 mg/mL), o trimetoprim-sulfametoxazol (16/3,2 mg/mL) en función del microorganismo aislado y su perfil de sensibilidad. El SA se realizó de forma ambulatoria en los diez pacientes.

Resultados: En todos los pacientes se extrajeron hemocultivos cuantitativos 72 horas después de la finalización del sellado, resultando negativos y considerando el SA eficaz en todos los casos. No hubo ninguna complicación durante el tratamiento. Uno de los pacientes volvió a sufrir un episodio de IAC a los 7 meses, por un microorganismo diferente al causante del primero, realizándose de nuevo un SA y resultando éste eficaz.

Conclusiones: El SA es una terapia efectiva en pacientes con un CVCT y con criterios de IAC, pudiéndose realizar éste de forma ambulatoria con las consiguientes ventajas que supone esto para el paciente.

067

ESTUDIO "IN VITRO" DE LA EFICACIA DE DISTINTOS TIEMPOS DE SELLADO ANTIBIÓTICO (SA) CON VANCOMICINA, TEICOPLANINA Y FOSFOMICINA SOBRE UN MODELO DE CATÉTER INFECTADO

M. Lamata, J.L. Del Pozo, S. Hernández, A. Ais* y J. Leiva
Servicio de Microbiología. *Servicio de Farmacia. Clínica Universitaria de Navarra.

Introducción: En los casos de infección asociada a catéter por un estafilococo coagulasa negativo está demostrada la eficacia del SA con un glucopéptido, lo que todavía no está bien establecida es la duración idónea del sellado para conseguir erradicar la infección. Además no hay datos que avalen el uso de otros antibióticos para el tratamiento de estas infecciones.

Objetivos: Comparar la eficacia del SA utilizando Vancomicina, Teicoplanina y Fosfomicina a una concentración de 4 mg/ml con distintas duraciones del sellado.

Material y métodos: Se utilizaron 24 puntas de catéter intravascular (CIV) de poliuretano. Todas ellas fueron infectadas *in vitro* con una cepa de *Staphylococcus epidermidis* formadora de biofilm. La solución de heparina y antibiótico fue preparada diariamente. Se estudiaron distintas duraciones diarias del SA (12 y 24 horas/día) durante un número variable de días (3, 5, 7 y 10 días). Tras la finalización de cada sellado los CIV se sonicaron y fueron procesados siguiendo la técnica de Cleri.

Resultados: Con los tres antibióticos probados se consigue la esterilización del CIV entre los días 3 y 5 independientemente de que esté sellado 12 o 24 horas al día.

Conclusiones: El SA con vancomicina, teicoplanina y fosfomicina resulta eficaz *in vitro* para conseguir la esterilización de un CIV infectado con una cepa de *Staphylococcus epidermidis*. Dado que el CIV se esteriliza antes del quinto día se podría plantear una menor duración de los SA *in vivo*. La ventaja de utilizar fosfomicina en estos casos radica en su menor coste económico con respecto a los glucopéptidos.

Sesión 4 Métodos diagnósticos (I)

068

¿ES NECESARIO MANTENER EL FRASCO DE HEMOCULTIVOS PARA ANAEROBIOS EN EL DIAGNÓSTICO DE BACTERIEMIA EN NIÑOS?

M. Rodríguez-Créixems, C. Fron, P. Muñoz, C. Sánchez, T. Peláez y E. Bouza

H.G.U. Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción y objetivos: El descenso en la incidencia de bacteriemia causada por bacterias anaerobias (BA) ha inducido en algunas instituciones a eliminar el uso sistemático del frasco de anaerobios de los hemocultivos (FAH). En los niños la incidencia de BA es baja, pero algunos microorganismos anaerobios facultativos se recuperan mejor del FAH incubado en atmósfera anaerobia. Hemos evaluado el resultado del cultivo de los FAH en nuestra población pediátrica con sospecha de bacteriemia.

Material y métodos: De forma retrospectiva hemos analizado el crecimiento de microorganismos en los FAH durante el período 1998-2000 en la población infantil (< de 16 años). Durante el período de estudio el sistema de hemocultivos utilizado fue el BACTEC 9.240 (Laboratorios Becton-Dickinson) y las recomendaciones en cuanto a número de extracciones y volumen de sangre dependieron de la edad del niño.

Resultados: Durante los 3 años del estudio se documentaron un total de 181 episodios de bacteriemia significativa en niños con 198 microorganismos distribuidos como sigue: 114 (62,9%) Gram positivos, 75 (37,8%) Gram negativos, 3 (1,6%) anaerobios y 6 episodios (3,3%) levaduras. Se aislaron solamente de los FAH los siguientes: *Salmonella* spp. (2 de 3), *E. coli* (6 de 11), *Haemophilus* spp. (4 de 8), *S. pneumoniae* (13 de 29), *E. cloacae* (2 de 6), *S. typhi* (1 de 3), *S. aureus* (2 de 11), *Enterococcus* spp (1 de 8), *Klebsiella* spp (1 de 13), *S. pyogenes* (1 de 2), *Leuconostoc* spp (1 de 1) y los 3 microorganismos anaerobios. A lo largo de los 3 años del estudio, sino hubiéramos utilizado el FAH, hubiéramos perdido, al menos, 37 microorganismos (20%) de todos los episodios de bacteriemia significativa en los niños.

Conclusión: El crecimiento no sólo de bacterias anaerobias sino también de anaerobias facultativas de los FAH sugiere la necesidad de conservar el cultivo de FAH para el diagnóstico de bacteriemia en la población infantil.

069

UTILIDAD DE LOS HEMOCULTIVOS PARA ANAEROBIOS DE RUTINA EN UN HOSPITAL COMARCAL

G. Peralta, A. González-Santamaría, M.P. Roiz y R. Arjona
Servicios de Medicina Interna y Microbiología. Hospital Sierrallana. Torrelavega. Cantabria.

Objetivos: En nuestro hospital se realizan hemocultivos para anaerobios (HCAn) y aerobios a todos los pacientes con sospecha de bacteriemia. Tratamos de evaluar la utilidad de la realización sistemática de HCAn.

Métodos: Revisión retrospectiva de todos los hemocultivos realizados en nuestro hospital (sistema BactAlert) desde su apertura hasta la actualidad, evaluando las historias de aquellos pacientes con HCAn positivos.

Resultados: Desde enero del 95 a junio del 2001 se han realizado hemocultivos a 7.763 pacientes. De ellos 39 pacientes tuvieron HCAn positivos (tres sin historia para evaluarlos). En 6 pacientes los anaerobios aislados se consideraron contaminantes y en 10 el microorganismo anaerobio creció también en hemocultivos para aerobios. En los 20 pacientes restantes los anaerobios aislados en los HCAn fueron: *B. fragilis* en 10 pacientes, *Bacteroides* spp en 4, *B. Capillosus* en 1, *C. perfringens* en 1, *Peptostreptococcus* en 2, *Prevotella* en 1, *Veillonella* en 1, y un bacilo gram negativo anaerobio no especificado en 1 (en un paciente se aislaron 2 anaerobios distintos). El resultado del HCAn supuso un cambio en la sospecha diagnóstica sobre el origen de la infección en 5 de los 20 pacientes, aunque en 2 de éstos finalmente no se detectó origen aparente para la bacteriemia por anaerobio. El HCAn positivo supuso un cambio de tratamiento antibiótico en 9 (en 3 de ellos se añadió cobertura de anaerobios) y realización de pruebas diagnósticas adicionales en 8 pacientes. Limitando la realización de HCAn para casos con factores de riesgo para infección por anaerobios, sólo en 4 de estos 20 pacientes no se habrían realizado HCAn.

Conclusiones: en nuestro medio la realización indiscriminada de HCAn es poco rentable dado que la bacteriemia por anaerobios tiene lugar habitualmente en pacientes con factores de riesgo para su desarrollo. Los HCAn deberían realizarse fundamentalmente en estos pacientes.

070

ESTUDIO COMPARATIVO DE DOS TIPOS DE BOTELLAS PEDIÁTRICAS DEL SISTEMA BacT/Alert EN EL AISLAMIENTO DE MENINGOCOCO

A. Gené*, A. González-Cuevas*, M. Roselló** y D. Fontanals**

*Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona, **Corporació Sanitària Parc Taulí. Sabadell.

Objetivo: Comparar el rendimiento del sistema de hemocultivos BacT/Alert, utilizando el nuevo medio pediátrico con carbono activado (CCA) frente al medio de cultivo previamente comercializado sin carbono activado (SCA), en el aislamiento de *Neisseria meningitidis*.

Métodos: Se han utilizado 30 cepas congeladas, aisladas de pacientes con sepsis y/o meningitis, sensibles y moderadamente resistentes a penicilina y pertenecientes a los serogrupos B y C.

Se prepararon dos diluciones por cepa de aproximadamente 1:10⁵ y 1:10⁶ UFC/ml. 0,4 ml de cada dilución, junto con 1 ml de sangre humana, se inocularon a una botella pediátrica SCA (que se ventilaba) y a dos botellas pediátricas CCA (una se ventilaba y la otra no). Se incubaron a 37 °C en el sistema BacT/Alert durante un máximo de 5 días. Antes de la inoculación de las botellas se realizó un control cuantitativo del inóculo y una vez se positivizaban un control cualitativo de crecimiento.

Resultados: No existen diferencias en la capacidad de recuperación de las cepas de *N. meningitidis* entre las botellas SCA y las nuevas botellas CCA, en inoculos que presentan una media de entre 174 y 1497 UFC/ml por botella. No se observan diferencias estadísticamente significativas entre el tiempo de crecimiento y el serogrupo o la sensibilidad a la penicilina de la cepa. Se observan diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de crecimiento entre las botellas SCA y las nuevas CCA, a favor de las primeras. Se observan diferencias estadísticamente significativas entre las botellas nuevas ventiladas y sin ventilar, a favor de las primeras.

Conclusiones: Las nuevas botellas pediátricas de hemocultivo del sistema BacT/Alert son adecuadas para la recuperación de cepas de *N. meningitidis*, aunque requieren mayor tiempo de incubación. A la vista de los resultados, ante la sospecha de sepsis y/o meningitis meningocócica sería recomendable ventilar las botellas previamente a la incubación para obtener los resultados con una mayor rapidez.

071

INOCULACIÓN DIRECTA DE PANELES DE VITEK 2 A PARTIR DE FRASCOS DE HEMOCULTIVOS (BACTEC 9240)

E. Ceballos, M. de Cueto, A. Pascual, L. Martínez Martínez, M.J. Clavijo y E.J. Perea

Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivo: Estudiar la posibilidad de inocular las tarjetas de identificación y antibiograma del sistema VITEK 2 con inoculos obtenidos directamente de frascos de hemocultivos positivos con el sistema BACTEC 9240 (Becton Dickinson; EEUU).

Método: Se estudiaron 50 Bacilos Gram Negativos (BGN) y 39 Cocos Gram Positivos (CGP). Se compararon los resultados obtenidos mediante inoculación convencional e inoculación directa a partir de frascos positivos de hemocultivos BACTEC PLUS (BD; EEUU). Para la CMI directa se depositaron 6 ml del frasco positivo en un tubo Vacutainer SST plus y se centrifugó 15 minutos a 3000 rpm (1500 x g). Del botón resultante se preparó un inóculo correspondiente a 0,5 de la escala de McFarland con el que se inocularon las tarjetas. La inoculación convencional se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante.

Resultados: Se obtuvo una identificación correcta en el 60% de los BGN y un 0% de los CGP. De los BGN identificados correctamente un 40% presentaron la misma sensibilidad con ambos métodos. Los porcentajes de errores menores, mayores y máximos fueron de 54%, 6% y 12% respectivamente, para BGN. Para los CGP estos valores fueron de 23%, 10% y 20% respectivamente.

Conclusiones: Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la inoculación directa de tarjetas de identificación y antibiograma de VITEK 2 a partir de frascos de hemocultivos positivos no es eficaz para acortar el tiempo de obtención de resultados definitivos de identificación y sensibilidad bacterianas.

072

ESTUDIO DE LA UTILIDAD DE LA TÉCNICA DE PCR EN LÍQUIDO PLEURAL EN EL DIAGNÓSTICO DE LA NEUMONÍA NEUMOCÓCICA

A. López, M. Falguera, A. Nogués, J.M. Porcel y M. García
Servicios de Med. Interna y Microbiología. Hospital Universitari Arnau de Vilanova. Lleida.

Objetivo: Los métodos diagnósticos tradicionales, aplicados al diagnóstico etiológico de la neumonía comunitaria, carecen de suficiente sensibilidad y especificidad. En el presente

estudio, nos proponemos evaluar la utilidad de la técnica de PCR para detectar genoma de *Streptococcus pneumoniae* en muestras de líquido pleural.

Métodos: Durante un período de 3 años, hemos analizado 102 muestras de líquido pleural correspondientes a 102 pacientes adultos con derrame pleural, distribuidos en dos grupos: grupo I, compuesto por 51 pacientes con derrame pleural paraneumónico; y grupo II, como grupo control, con 51 pacientes con derrame pleural debido a otras causas. Hemos utilizado el método nested-PCR, dirigido a detectar la presencia del gen de la neumolisina. El diagnóstico de neumonía neumocócica se basó en el aislamiento de germen en líquido pleural, sangre o esputo o la detección de genoma en sangre o de antígeno en orina; el diagnóstico de neumonía de otras etiologías se basó en los resultados obtenidos por las técnicas convencionales.

Resultados: Los resultados de la técnica de PCR, para los pacientes con derrame pleural paraneumónico, fueron los siguientes: fue positiva en 7/9 (sensibilidad 78%) pacientes con neumonía neumocócica (incluyendo 2/2 con cultivo de líquido pleural positivo y 5/7 con cultivo negativo), siendo el método más sensible entre todas las técnicas diagnósticas utilizadas; resultó así mismo positiva para 3/24 (12%) de los pacientes con neumonía de etiología desconocida y negativa en todos los pacientes (18 casos) con neumonía no neumocócica. En el grupo control detectamos dos muestras positivas (4%), las cuales debemos considerar como falsos positivos.

Conclusión: la técnica de PCR, aplicada a muestras de líquido pleural en la detección de genoma de *S. pneumoniae*, parece ser un método sensible y específico, con potencial para ser empleado en la práctica clínica rutinaria.

073

PRESENCIA DEL GEN *psaA* DE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* EN OTROS ESTREPTOCOCOS DEL GRUPO VIRIDANS

I. Jado, M. Ortega, G. Asensio, A. Fenoll y J. Casal

Laboratorio de Referencia de Neumococos. Instituto de Salud Carlos III. Majadahonda. Madrid.

La proteína PsaA (pneumococcal surface adhesin A) fue descrita en 1990 por Russell y cols. En los últimos años ha suscitado gran interés al considerarse un factor de virulencia de *Streptococcus pneumoniae* candidato a su utilización en el desarrollo de nuevas vacunas más eficaces. Esta proteína se encuentra en todos los aislados de neumococo y se consideraba específica de especie. Por ello, se ha sugerido que podría utilizarse en el diagnóstico e identificación de este microorganismo.

En nuestro laboratorio, se realizó un estudio de especificidad con un anticuerpo monoclonal dirigido frente a la proteína y se comprobó que se encuentra en otras especies de estreptococos del grupo viridans. Se ha identificado y secuenciado el gen *psaA* en las cepas tipo: *S. mitis* NCTC 12261, *S. oralis* NCTC y *S. anginosus*. Las secuencias deducidas a aminoácidos mostraron una similitud del 98% respecto a PsaA de la cepa tipo acapsulada R6.

El objetivo de este trabajo ha consistido en realizar un estudio de la distribución del gen *psaA* en los estreptococos que colonizan la nasofaringe de niños sanos de 3 a 5 años. Para ello, se ha realizado una encuesta de portadores en 265 niños pertenecientes a 6 colegios de Majadahonda (Madrid). Se aislaron 242 cepas que fueron identificadas como estreptococos según el método Rapid ID32 Strep System. Los DNAs fueron digeridos con *HindIII* llevándose a cabo la hibridación mediante "Southern-blot" con una sonda específica de *psaA* en condiciones restrictivas. Los resultados indicaron que el 65% de las cepas analizadas contenían este gen.

Estos resultados ponen de manifiesto la dificultad de utilizar esta proteína en la identificación y el diagnóstico de las enfermedades producidas por neumococo.

074

EVALUACIÓN DEL MEDIO XILOSA-GALACTOSIDASA (XG) PARA EL AISLAMIENTO DE ENTEROPATÓGENOS

G. Ruiz, M.J. Uría, A. Rico, A. Sánchez-Maroto, L. Valdés, C. López, S. Ortega y C. Ladrón de Guevara
Servicio de Microbiología. H.U. La Paz. Madrid.

Objetivo: Evaluar y comparar la sensibilidad y especificidad del medio XG con respecto a los medios habituales utilizados en coprocultivo para el aislamiento de *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y *Aeromonas* y ver su utilidad como único medio para el aislamiento de enteropatógenos en horario de guardias.

Material y métodos: Se analizaron un total de 967 muestras de heces recibidas en horario de guardia durante el periodo comprendido entre mayo de 2000 y junio de 2001. Las muestras se sembraron en medio XG en el momento de su recepción y entre las 12-72 horas siguientes en los medios MacConkey, SS, Selenito, CIN y agar sangre-ampicilina. El medio se incubó en aerobiosis a 37 °C realizándose la lectura entre las 18-72 horas siguientes.

Resultados: De las 967 muestras procesadas en 157 se aisló *Salmonella* spp, 90 de las cuales se recuperaron exclusivamente en los medios habituales, 3 *Shigella* spp procedían únicamente del medio XG, 2 *Yersinia* spp sólo del medio CIN y 1 *Aeromonas* spp tanto del medio XG como del medio agar sangre-ampicilina. En 810 muestras no se aisló ningún enteropatógeno pero se trabajaron colonias compatibles en el 37,5% del medio XG; 14,2% del pase del selenito; 12,3% del medio MacConkey y 7,5% del medio SS. La sensibilidad (S) y especificidad (E) de los distintos medios fue: XG (S: 42%; E: 72%), MacConkey (S: 49%; E: 89%), SS (S: 79%; E: 92%) y Selenito (S: 82%; E: 87,5%).

Conclusiones: El medio XG carece de la sensibilidad suficiente para ser empleado como único medio en el aislamiento de enteropatógenos en horario de guardia. Respecto a los aislamientos de *Salmonella* spp cualquier medio de los estudiados mostró una mayor sensibilidad y especificidad que el medio XG. La recuperación de *Shigella* spp se debió probablemente al procesamiento inmediato de la muestra. El medio XG no mejora la recuperación de *Yersinia* spp ni *Aeromonas* spp.

075

EVALUACIÓN DEL SISTEMA ROBObACT® PARA EL PROCESAMIENTO DE COPROCULTIVOS

M.A. Sánchez, L. de Rafael, P. Ruiz, F. Baquero y R. Cantón
Servicio de Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: Evaluación del sistema Robobact para el procesamiento de coprocultivos. Comparación de los resultados obtenidos con los obtenidos por el método manual habitual.

Métodos: En el estudio se han incluido 245 muestras clínicas consecutivas procedentes de la rutina del Hospital Ramón y Cajal. El procesamiento de las muestras se realizó de forma paralela por el sistema Robobact y por el procedimiento manual, siguiendo el método de referencia de la ASM (American Society for Microbiology, Cumitech 12A). Las colonias aisladas fueron identificadas por el sistema Wider®.

Resultados: Fueron aislados patógenos entéricos en 22 muestras clínicas, con el sistema Robobact y en 21 con el método manual. Durante el estudio se aislaron por ambos métodos un total de 25 patógenos entéricos distribuidos de la siguiente manera: 11 *Salmonella* spp., 1 *Shigella* spp., 7 *Yersinia enterocolitica* y 6 *Aeromonas* spp.. Con el sistema Robobact se aisló *Salmonella* spp. en 11 muestras clínicas, *Shigella* spp. en 1 muestra, *Yersinia enterocolitica*. en 6 muestras y *Aeromonas* spp. en 5 muestras. Con el método

manual se detectó *Salmonella* spp. en 11 muestras clínicas, *Shigella* spp. en 1 muestra, *Yersinia enterocolitica* en 6 muestras y *Aeromonas* spp. en 4 muestras. Por otra parte el sistema Robobact anticipó en 24 h el aislamiento del 20% de los patógenos. La sensibilidad del sistema Robobact fue de 88% con una especificidad del 100%. El valor predictivo negativo fue 98,65%, siendo el valor predictivo positivo del 100%. La concordancia entre los resultados obtenidos por ambos métodos fue del 97,95% (en 240 muestras de 245 se obtuvo el mismo resultado por ambos métodos).

Conclusiones: El sistema Robobact es una herramienta útil en el procesamiento de coprocultivos aumentando el grado de automatización del laboratorio y disminuyendo el tiempo de emisión de resultados y el contacto con muestras biológicas del personal del laboratorio.

076

EVALUACIÓN DEL MEDIO ENTÉRICO SSI (BIOLINK) EN EL DIAGNÓSTICO DE GASTROENTERITIS AGUDA

G. Seseña, A. Sánchez Valladares, Y. Gil, M.D. Martín, J.M. del Alamo, M. Páez y M.S. Cuétara
Hospital Severo Ochoa. Leganés. Madrid.

Objetivo: Valorar el nuevo medio SSI (Biolink) como medio de aislamiento de enteropatógenos en gastroenteritis aguda (GEA)

Método: Se han incluido un total de 163 heces procedentes de pacientes con clínica de GEA durante los meses de julio y agosto de 2001.

Las muestras fueron sembradas en medios SSI, SS (Oxoid), *Campylobacter* (Oxoid), CIN (Oxoid) y Selenito (Oxoid) Todas aquellas colonias sospechosas de ser enteropatógenas (lactosa negativas y/o sulfidricas) fueron identificadas por pruebas bioquímicas y/o serológicas.

Resultados: De los 163 coprocultivos no se aisló enteropatógenos en 94 (57,67%); dos de ellos con detección positiva para antígeno de rotavirus. En los 69 restantes (42,33%) se aisló enteropatógeno con la siguiente distribución: 47 *Salmonella* spp. (68,11%), 18 *Campylobacter* spp. (26,09%), 3 *Aeromonas hydrophila* (4,35%) y 2 *Yersinia enterocolitica* (2,9%). Los casos de *Aeromonas* y *Yersinia* sólo se aislaron en medio CIN. Los aislamientos de *Salmonella* fueron; 24 (51,06%) en ambos medios, 7 (14,89%) se aislaron sólo del SS y 3 sólo del SSI. El resto, 13 (27,66%) se recuperó del Selenito. De 41 aislamientos de SSI cuyas colonias eran sugerentes de *Salmonella*, fueron confirmadas 27 (65,85%). De los 52 aislamientos de SS sugerentes de ser *Salmonella*, se confirmaron 31 (59,61%)

La comparación estadística entre ambos medios no reveló diferencias significativas en lo referente al número total de aislamientos y en el número de colonias trabajadas

Conclusiones: El estudio realizado nos indica que el medio SSI es útil en el aislamiento de *Salmonella*, aunque no aporta ventaja significativa respecto al SS. Será necesario otro estudio con un tamaño muestral mayor para demostrar si existen diferencias significativas entre ambos medios

077

IDENTIFICACIÓN DE AEROMONAS sp MEDIANTE DOS SISTEMAS AUTOMATIZADOS

P. Zamarrón, J.A. Sáez, T. Pérez Pomata, C. Gimeno, J. Palomo, E. Rodríguez, A. González Praetorius y J. Bisquert
Hospital General de Guadalajara.

Objetivos: Evaluar la utilidad de dos sistemas comerciales para la identificación de *Aeromonas* sp.

Material y métodos: Se seleccionaron 45 cepas de bacilos gramnegativos, oxidasa positivos y fermentadores de glu-

cosa, procedentes de diferentes muestras clínicas (38 heces, 1 orina, 5 exudados purulentos y 1 hemocultivo), que fueron identificadas presuntivamente como *Aeromonas sp.* mediante paneles Microscan Combo Negativo (Dade) y resistencia al factor vibriostático O129. El Servicio de Bacteriología del CNM (Instituto de Salud Carlos III) confirmó el género de todos estos aislados y los identificó a nivel de especie mediante pruebas bioquímicas clásicas y paneles API NE, API E (Biomerieux) y Biolog GN (Biolog); 15 cepas eran *A. caviae*, 18 *A. veronii sobria*, 11 *A. hydrophila* y 1 *A. veronii veronii*. Todas ellas fueron inoculadas en paneles Sensititre ECC5F Combo Negativo (Izasa) que se procesaron en el sistema automático Aris. Además, se inocularon paneles Sensititre y Microscan con las siguientes cepas: *A. caviae* ATCC 13137, *A. sobria* ATCC 9071, *A. hydrophila* ATCC 13442, *A. media* ATCC 35950 y *A. veronii* ATCC 35622.

Resultados: Microscan identificó 33 cepas (66%) como "*Aeromonas hydrophila* grupo", 3 (6%) como pertenecientes a otros géneros y 14 (28%) no fueron identificadas. Aris identificó correctamente 49 cepas (98%) a nivel de género y 33 (66%) a nivel de especie.

Conclusiones: El sistema Microscan asignó el género correcto solamente al 66% de las cepas. El sistema Aris es un buen método para identificación de *Aeromonas sp.* a nivel de género pero insuficientemente discriminatorio a nivel de especie. Las pruebas bioquímicas clásicas continúan siendo indispensables para la identificación de *Aeromonas sp.*

078

PROCESAMIENTO DE COPROCULTIVOS Y AISLAMIENTO DE AEROMONAS

A. Navascues, M. Ojer, A. Ruz e I. Dorronsoro

Servicio de Microbiología, Hospital de Navarra, Pamplona.

Objetivos: Valorar la repercusión del cambio en el protocolo de procesamiento de coprocultivos en la recuperación de *Aeromonas* y *Plesiomonas*.

Material y métodos: En 1999 se utiliza el medio de Agar-Sangre-Ampicilina (ASA) para aislamiento de *Aeromonas*. En Enero de 2000, se sustituye el ASA por CIN que se incubaba a Tª ambiente y a partir de cualquier tipo de colonia, se inoculan parejas de tubos de TSI+UREA y se realiza una estría en placa de AS para oxidasa. En Enero de 2001, se inocula del mismo modo la placa de AS a partir de las colonias seleccionadas en SS y GN-SS que no produzcan SH2. A las 24 h, a partir de las colonias ureasa- y oxidasa+, se realiza la identificación con una galería API20E y sensibilidad a: O/129.

Resultados: En 1999, se diagnosticaron 6 casos de gastroenteritis por *Aeromonas*. En el año 2000, se diagnosticaron 21 de los cuales, 8 crecieron exclusivamente en medio de CIN y el resto, (con 29 coprocultivos positivos) se aislaron también del medio SS o GN-SS. Sin embargo, en ese momento, no realizábamos sistemáticamente la prueba de la oxidasa en las colonias seleccionadas en SS, por lo que esta característica únicamente se verificó en aquellas colonias con reacciones similares a las seleccionadas en CIN. Desde enero hasta septiembre de 2001, realizando oxidasa en todas las colonias seleccionadas en SS que cumplen los criterios expuestos, se han aislado 36 cepas de *Aeromonas* y 2 de *Plesiomonas* de las cuales 6, se aislaron solamente de la placa de CIN, 2 solamente de la de SS (1 *Aeromonas* y 1 *Plesiomonas*) y 2 solamente de la resiembra en SS del caldo GN (1 *Aeromonas* y 1 *Plesiomonas*).

Conclusiones: La incorporación del medio de CIN y realización de la prueba de la oxidasa en todas las colonias SH2- seleccionadas en SS, ha supuesto un notable incremento en el aislamiento de *Aeromonas* y *Plesiomonas* en coprocultivos.

079

DETECCIÓN DE ANTÍGENO DE *H. PYLORI* EN HECES. UTILIDAD DIAGNOSTICA

M.A. Orellana, M. Sánchez-Ampudias, M. Aramendi, G. Galera, A. Torregrosa y P. Martínez

C.E.P. Pontones. Área 11. Madrid.

Objetivo: Estudiar la utilidad diagnóstica de la detección de Ag. de *H. Pylori* (HP) en heces, como método no invasivo.

Material y métodos: Se estudian 52 pacientes adultos con sintomatología gastrointestinal, a los cuales se les realiza endoscopia gástrica con determinación de cultivo y/o test de ureasa como método de referencia y test de detección de Ag. de Hp en heces, Premier Platinum HpSA (Meridian Diagnostic). En 37 de los 52 pacientes se realizó detección de Ag. Hp en heces postratamiento.

Resultados: Los resultados obtenidos fueron:

– Se encontró concordancia de resultados en 45 muestras (86%).

– Se obtuvo una Sensibilidad del 89%, Especificidad del 66%, Valor Predictivo Positivo del 95% y Valor Predictivo Negativo del 44%.

– Existió negativización de la prueba postratamiento en el 70,2% (26 pacientes), encontrándose todos ellos asintomáticos.

Conclusiones: -La determinación de Hp en heces es una prueba sensible, fácil de realizar y no invasiva que se puede utilizar en pacientes con patología sugerente y que muestran reservas ante la endoscopia. Esta utilidad diagnóstica mejoraría, si tras el tratamiento la sintomatología remite y el test se negativiza.

–La baja especificidad y valor predictivo negativo se debe al escaso número de pacientes con Hp negativo, más que a las propiedades del test.

080

EVALUACIÓN DE UN NUEVO TEST RÁPIDO PARA LA DETECCIÓN DE *HELICOBACTER PYLORI* EN HECES

I. Sanfeliu, F. Salceda, M. Roselló, A. Montserrat, R. Campo y X. Calvet

Corporació Parc Taulí, Sabadell. Barcelona.

Objetivo: El objetivo del presente estudio fue evaluar la fiabilidad diagnóstica y reproducibilidad de una nueva prueba rápida inmunocromatográfica (Stick H. pyl, OPERON SA, Zaragoza) que utiliza anticuerpos monoclonales para la detección de antígeno de *Helicobacter pylori* en heces y compararla con la prueba actualmente comercializada (HpSA, EIA, Premier Platinum HpSA, Meridian Diagnosis Inc, Cincinnati, Ohio).

Métodos: Se incluyeron 71 pacientes sometidos a endoscopia para estudio de síntomas dispépticos. Se practicaron biopsias para CLO-test e histología antral. Se consideraron infectados por *Helicobacter pylori* aquellos pacientes que presentaban histología y CLO-test positivos y no infectados aquellos con ambos test negativos. En heces se realizaron dos determinaciones seriadas de antígeno de *Helicobacter pylori* mediante HpSA y cuatro determinaciones consecutivas con Stick H. pyl. Se calculó la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo. La concordancia entre determinaciones se evaluó mediante el estadístico Kappa.

Resultados: De los 68 pacientes evaluables, 48 presentaban infección por *Helicobacter pylori*. La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo en las distintas determinaciones oscilaron entre el 89%-96%, 60%-70%, 85%-88% y 74%-87% respectivamente para Stick H. pyl frente al 70%-75%, 60%-85%, 85%-92% y 55%-80% para HpSA. Los índices de concordancia variaron entre 0,82 y 0,93 para Stick H. pyl frente a 0,57 para HpSA.

Conclusiones: Stick H. pyl muestra una excelente sensibilidad y reproducibilidad para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*. Su fiabilidad es superior a la de HpSA.

081

EVALUACIÓN DE UN NUEVO MÉTODO INMUNODIAGNÓSTICO (FEMTOLAB) PARA *HELICOBACTER PYLORI* EN HECES

M. Rosello, M.C. Quesada, I. Sanfeliu, F. Salceda, A. Montserrat, E. Brullet y X. Calvet

Corporació Parc Tauli. Sabadell. Barcelona.

Helicobacter pylori es la principal causa de gastritis crónica. Su presencia ha sido vinculada al desarrollo de úlcera péptica y al adenocarcinoma gástrico. Los antígenos de *H. pylori* pueden ser detectados en las heces por ensayos inmunoenzimáticos (ELISA), lo cual se ha convertido en una herramienta útil de diagnóstico no invasivo.

Objetivo: Evaluar la utilidad diagnóstica en pacientes dispépticos de un nuevo ELISA monoclonal (FemtoLab *H. pylori*, Cnx, Martinsried, Alemania) basado en la detección de coproantígenos específicos.

Métodos: Se incluyeron 76 pacientes dispépticos (50 hombres, 26 mujeres, rango de edad 17-84, edad promedio 52 ± 16,5). Se evaluó la presencia de antígeno de *Helicobacter pylori* (Hp) en heces mediante Femtolab en tres determinaciones en días distintos. La presencia o ausencia de infección por Hp se estableció mediante los resultados combinados de histología, ureasa antral y dos test de detección de antígenos en heces HpSA (Platinum Premier HpSA™ Meridian Diagnostic Inc. Cincinnati, U.S.A.) y Stick H. pyl (OPRON S.A., Zaragoza, España). Se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN) y la correlación entre las distintas determinaciones mediante el estadístico Kappa.

Resultados: La sensibilidad, especificidad, VPP y VPN oscilaron entre 98-100%, 84-90%, 95-96% y 94-100% respectivamente. Los índices de concordancia varían entre 0,85 y 0,92.

Conclusiones: El FemtoLab muestra una excelente sensibilidad, especificidad y reproducibilidad para el diagnóstico de la infección por *H. pylori*.

082

ESTUDIOS IN VITRO DE DEGRADACIÓN DE LA TOXINA DE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*. SU IMPORTANCIA EN EL ENSAYO DE CITOTOXICIDAD

A. Martín, R. Alonso, J. Guinea, M. Sánchez-Conde, T. Peláez, E. López-Cernada y E. Bouza

Hospital Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: En nuestra experiencia, hasta un 15% de las muestras fecales portadoras de *C. difficile* toxigénico, son negativas en un ensayo de citotoxicidad directo. Esta pérdida de sensibilidad de la técnica, podría estar justificada por la degradación de la toxina preformada debido a diferentes factores físico-químicos relacionados con la propia muestra o con su transporte al laboratorio. En este estudio, hemos evaluado la influencia de alguno de estos factores en el rendimiento del ensayo de citotoxicidad.

Métodos: En el estudio se utilizó una cepa toxigénica de *C. difficile* (ATCC 9698). Los cultivos fueron realizados en BHI. Después de 48 horas de incubación, los caldos fueron filtrados, diluidos para su titulación, alicuotados y sometidos a los diferentes tratamientos. Las temperaturas ensayadas fueron 4 °C, 25 °C, 37 °C y 42 °C. Se consideraron 3 pHs, 6,5, 7,2 y 7,8 y presencia de proteasas a concentraciones fisiológicas (14 u/gr). Todas las condiciones fueron estudiadas a 5 tiempos diferentes: 0 h, 18 h, 24 h, 3 d y 5 d.

Resultados: A pH neutro la actividad de la toxina fue óptima, detectándose hasta el 5º día a cualquier temperatura incluso con la muestra diluida 10 y 100 veces. Los pHs ácidos y alcalino mantuvieron la citotoxicidad durante los 5 días a cualquier temperatura aunque el título decreció ligeramente. La presencia de proteasas a concentraciones fisiológicas no afectó a la actividad citotóxica a 4 °C ni a 25 °C, pero si a 37º y especialmente a 42º, detectándose en este último caso sólo en muestra sin diluir y hasta un máximo de 24 h.

Conclusiones: La toxina B de *C. difficile* ha demostrado tener una gran estabilidad en condiciones normales. Otras razones, diferentes a la degradación, deben ser las responsables de los falsos negativos de la técnica.

083

EVALUACIÓN DEL TEST RÁPIDO CdTOX A OIA EN AISLADOS CLÍNICOS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA DIARREA ASOCIADA A *C. DIFFICILE* (DACD)

T. Peláez, C. Pérez, L. Alcalá, A. Martín, R. Alonso, P. Muñoz y E. Bouza

Hospital Gregorio Marañón, Madrid.

Objetivos: El diagnóstico de DACD se basa en la determinación de la citotoxicidad (toxina B) en líneas celulares a partir de muestras fecales. También es conocido que un 15% de los casos de DACD sólo se demuestran tras comprobar la producción de toxina B en los aislados clínicos de *C. difficile* procedentes de heces diarreicas ("Second look cytotoxicity", Bouza et al, J. Hospital Infection, 2001. 48:233-237). Nuestro objetivo fue evaluar el test CdTOX A OIA (toxina A) en aislados clínicos utilizando la combinación de la citotoxicidad y el "second-look" como método de referencia.

Métodos: Durante un periodo de 10 meses (enero a octubre de 2001), las muestras fecales de pacientes con sospecha de DACD se enviaron sistemáticamente para cultivo en medio CCFA (cicloserina-cefoxitina-fructosa agar) y para la determinación de citotoxicidad en líneas celulares MRC-5. Cuando fue necesario, se realizó el "second-look" a partir de los aislados clínicos. A su vez, a todos los aislados de *C. difficile* se les realizó el test para la detección rápida de toxina A.

Resultados: Durante el periodo de estudio, el método de referencia detectó citotoxicidad en 189 muestras fecales, todas ellas con cultivo positivo en medio de CCFA; mientras que, en 30 muestras crecieron cepas de CD no toxigénico. CdTOX A OIA clasificó correctamente 177 de las 189 cepas toxigénicas y 29 de las 30 cepas no toxigénicas. La sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo del test Cd TOX A OIA fueron, respectivamente: 93,6%, 96,6%, 99,4% y 70,7%. La concordancia entre ambos métodos fue del 94%.

Conclusiones: El test rápido de detección de toxina A (Cd-TOX A OIA) es un método alternativo válido y rápido para la demostración de toxigenicidad en aislados clínicos de *C. difficile*, particularmente en hospitales sin disponibilidad de líneas celulares.

084

VALORACIÓN DE MÉTODOS INMUNOENZIMÁTICOS PARA LA DETECCIÓN DE LAS TOXINAS DE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE*

A. Benavente, A. Andreu, C. Juste y R. Bartolomé

Servicio de Microbiología Hospital Vall d'Hebrón. Universitat Autònoma de Barcelona.

Objetivos: Valorar 4 métodos inmunoenzimáticos (EIAs) y el cultivo para el diagnóstico de la diarrea asociada a *C. difficile* (DACD).

Métodos: La detección de toxinas en las heces se realizó en 114 muestras de 103 pacientes mediante 4 EIAs: CdTOXA OIA (n = 114); Vidas *C. difficile* Toxin AII (n = 114); Premier Toxins A&B (n = 89); Immunocard Toxin A (n = 23). Como método de referencia se utilizó la demostración de la toxicidad directa de heces en líneas celulares Hep2 (CTDH). El cultivo de heces (n = 114) se realizó en agar fructosa con cicloserina y cefoxitina y la toxigenicidad de los aislamientos se determinó mediante el método de referencia (citotoxicidad de los aislamientos-CTA) y el EIA Vidas. Mediante PCR se investigaron los genes *toxA* y *toxB* (n = 28).

Resultados: El CTDH fue positivo en 28 (24%) de las muestras y 36 (31,6%) de ellas fueron positivas en alguno de los 4 EIAs. La sensibilidad (S) y especificidad (E) de los EIAs fue respectivamente: CdTOX A, 82% y 95%; Vidas: 89% y 96%; Premier, 84% y 95%; Immunocard, 76% y 100%. El porcentaje de falsos positivos y negativos fue respectivamente: CdTOXA, 14,8% y 5,7%; Vidas, 11,1% y 3,5%; Premier, 12,5% y 6,1%; Immunocard, 0% y 23,1%. Se aisló *C. difficile* en 31 (27%) muestras (S: 89%; E: 94%). La correlación media entre el cultivo y los EIAs fue de 83,5% (rango 78-88%). En los 4 EIAs el porcentaje medio de muestras con resultado negativo y cultivo positivo fue del 16,6 (rango 9,3-30,7). El porcentaje medio de toxigenicidad de estas cepas fue del 61,4 (rango 44,4-75). En 26 (92%) aislamientos de *C. difficile* se detectaron los genes *toxA* y *toxB* y en los dos restantes ninguno.

Conclusiones: Los EIAs a excepción de Premier, han sido sensibles, rápidos y de fácil manipulación para el diagnóstico de DACD. El cultivo y la determinación de la toxigenicidad de las cepas han mejorado el diagnóstico en las muestras con resultados falsos negativos de los EIAs.

085

VALOR PREDICTIVO DE INFECCIÓN Y EVOLUCIÓN DE CITOCINAS PROINFLAMATORIAS EN ANCIANOS FEBRILES

L. Martí, A. Moreno, X. Filella, M. Almela, N. Benito, J.L. Marín, M. Sánchez y J.M. Gatell

Hospital Clinic. Barcelona.

Las citocinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, TNF- α) son excelentes predictores de daño tisular, inflamación e infección. Sin embargo, no hay suficientes datos sobre su valor predictor en pacientes sépticos y ancianos.

Objetivos: Estudiar las citocinas que se correlacionan con la infección y el pronóstico en pacientes ancianos con fiebre.

Métodos: Estudio prospectivo de pacientes mayores de 60 años y T e $\geq$ 38 °C ingresados en un hospital universitario, durante el año 1999. Se determinaron al ingreso y al 4º día: IL-1 β , IL-6, TNF- α , Proteína C Reactiva (PCR). Se solicitaron los cultivos usuales según el foco probable y se controló la evolución de los pacientes hasta el alta o fallecimiento.

Resultados: Se incluyeron 100 pacientes (59 hombres). La edad media fue de 75 años (SD 8,4). El test APACHE II al ingreso fue de 16,6 (SD: 4,7). En 43 pacientes se aislaron 60 microorganismos. Presentaron bacteriemia 28 pacientes: *E. coli* (13) *S. pneumoniae* (5), *Staph. coagulasa* negativo (3) y otros en 7. Fallecieron 14 pacientes (14%). Los pacientes con infecciones por microorganismos grampositivos vs gramnegativos presentaron valores a su ingreso de TNF- α de 107,5 pg/ml vs 132,2 (p = 0,006) y al 4º día de 35,5 vs 108,7 (p = 0,013). La infección urinaria vs respiratoria se correlacionó con valores de TNF- α iniciales de 110,7 vs 50,4 (p = 0,004) y al 4º día de PCR: 12,4 mg/dl vs 6,5 (p = 0,025), TNF- α : 78,5 vs 31,6 (p = 0,0001) e IL-6: 103,9 pg/ml vs 67,5 (p = 0,019). Los pacientes con bacteriemia presentaron valores elevados al ingreso de TNF- α : 115,5 vs 42 (p = 0,0001) y de IL-6 de 2625,6 vs 243,9 (p = 0,017), y al 4º día valores de TNF- α de 83,3 vs 41,3 (p = 0,017). Los pacientes que fallecieron tuvieron

niveles más elevados de IL-6 al 4º día que los que sobrevivieron: 348,5 vs 68,1 (p = 0,006).

Conclusiones: Niveles elevados de TNF- α se correlacionaron con infección por microorganismos gramnegativos, foco urinario y bacteriemia. Valores elevados al ingreso de IL-6 se comprobaron en pacientes con bacteriemia e infección urinaria. Los niveles elevados de IL-6 al 4º día se correlacionaron con mal pronóstico.

086

UTILIDAD DE LA DETERMINACIÓN DE PROCALCITONINA EN INFECCIONES RESPIRATORIAS DE VÍAS BAJAS EN NIÑOS

C. Prat, J. Domínguez, M. Giménez, N. Galí, A. Pérez, M. Azuara*, C. Rodrigo* y V. Ausina

Servicios de Microbiología y *Pediatría H.U. Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona.

Objetivo: Evaluar la utilidad de la determinación de procalcitonina para distinguir la etiología infecciones respiratorias de vías bajas en niños.

Material y métodos: Se seleccionaron pacientes que acudieron al servicio de Urgencias de Pediatría con síntomas compatibles con infección respiratoria aguda (bronquiolitis o neumonía). Se recogieron hemocultivos, muestras de suero, orina y de aspirado nasofaríngeo en el momento de su llegada a Urgencias. Se diagnosticó neumonía bacteriana en 41 pacientes. La etiología fue *S. pneumoniae* en 26 (aislamiento en hemocultivo y/o líquido pleural en 4 pacientes; antigenuria positiva en 22 pacientes), *Mycoplasma pneumoniae* en 12 pacientes y *Chlamydia pneumoniae* en 3 (seroconversión). Se diagnosticó bronquiolitis o neumonía vírica en 31 pacientes (IFD en aspirado nasofaríngeo: Influenza en 13, VRS en 16 y Adenovirus en 2).

Resultados: Los valores de la mediana para procalcitonina fueron 14,8 ng/ml en la neumonía neumocócica, 5,31 ng/ml en la neumonía atípica y 1,3 ng/ml en la infección vírica. Los valores de PCR fueron 274,5, 207,7 y 69 mg/L, respectivamente, y los de leucocitos 18250, 22700 y 14800/mm³ respectivamente. Utilizando un cut-off de 2 ng/ml para PCT y de 20 mg/L para PCR, la sensibilidad para distinguir infección bacteriana de vírica fue 73,2% para PCT y de 93,6% para PCR, y la especificidad fue de 80,6% para PCT y 27,7% para PCR. Para distinguir infección neumocócica de otras etiologías, la sensibilidad fue 92,3% para PCT y de 100% para PCR, pero la especificidad fue de 73,9% para PCT y de 24% para PCR.

Conclusiones: Los niveles elevados de PCT muestran una correlación significativa (p < 0,0001) con la etiología bacteriana de la infección respiratoria baja. En niños con neumonía, la determinación de PCT puede ayudar a distinguir la etiología neumocócica de otras etiologías comunes al inicio de los síntomas.

087

RENDIMIENTO DIAGNÓSTICO EN BIOPSIAS DEL TRACTO DIGESTIVO SUPERIOR (TDS) E INFERIOR (TDI)

S. Melón, M. Álvarez, I. de Diego, F. Pérez, R. Cimadevilla, M. Lantero y M. de Oña

Servicio de Microbiología I, H. Central de Asturias.

Objetivos: Conocer la implicación viral en biopsias digestivas, la técnica más sensible para su detección y su relación con hongos y bacterias.

Material y métodos: Entre diciembre de 1996 y septiembre de 2001 se estudiaron 98 biopsias del TDS (esófago y estómago) y 195 del TDI (intestinos grueso y delgado). A todas se realizó PCR para HSV1, HSV2, VZV y CMV e inoculación en células MRC5, y también PCR para EBV en 27. Se investigó además la presencia de bacterias y hongos en 29 muestras del TDS y 39 de las TDI.

Resultados: TDS: en 49 (50%) de las 98 biopsias se detectó virus, 48 por PCR y 15 por cultivo ($p < 0,001$). Los virus encontrados fueron: 26 (53,1%) HSV1, 19 (38,8%) CMV, 4 (8,1%) VZV, 3 (6,1%) HSV2 y 3 EBV. En 6 ocasiones, el CMV estuvo asociado a otro virus. De 29 biopsias procesadas también para hongos y bacterias, en 24 (82,7%) se recuperó un patógeno: 15 Candidas (13 *C. albicans*), 7 HSV1, 3 CMV, 2 VZV y 1 *M. tuberculosis*. En 5 casos la *C. albicans* se asoció con virus.

TDI: en 72 (37%) de las 195 biopsias se encontró virus: 34 (47,2%) CMV, 32 (44,4%) HSV1, 6 (8,3%) HSV2 y 3 (4,1%) EBV. En 3 muestras el CMV se detectó junto con otro virus. Todos los virus se detectaron por PCR y sólo en 2 casos se logró aislar CMV. De 39 biopsias con cultivos bacterianos y fúngicos, 23 (59%) fueron positivas, observándose virus en 16 (69%) (11 HSV1 y 5 CMV), bacterias de la FBN en cultivo puro en 7 (30%) (4 *P. aeruginosa*, 1 *E. coli*, 1 *S. maltophilia*, 1 *S. faecalis*), 1 *C. difficile* y 3 Candidas (13%). En 4 ocasiones hubo infección mixta de virus y bacterias u hongos.

Conclusiones: 1) Los virus más frecuentemente detectados fueron el HSV1 y el CMV. 2) El CMV estuvo presente en todas las infecciones virales mixtas. 3) La técnica de diagnóstico viral más sensible fue la PCR. 4) Mientras que en el tracto digestivo superior se encuentran hongos y virus en proporción similar, en el tracto inferior los virus son más frecuentes.

088

EVALUACIÓN DE UN MÉTODO DE BIOLOGÍA MOLECULAR (BDProbe-Tec) PARA DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN POR *C. TRACHOMATIS*

P. Liendo, D. Suárez, M. Imaz, V. Esteban, M. Sota y R. Cisterna.

Servicio de Microbiología. Hospital de Basurto. Bilbao.

Objetivo: Valorar un nuevo sistema de amplificación de ADN (BDProbeTec) para el diagnóstico de infección por *C. trachomatis* en muestras endocervicales, uretrales y orinas y compararlo con el método tradicional, el cultivo celular, en muestras genitales.

Método: El nuevo método utiliza la tecnología de amplificación por desplazamiento de cadenas (SDA) y se fundamenta en la amplificación y detección simultánea de ADN diana utilizando primers y una sonda marcada con material fluorescente. El proceso puede terminarse en 3 horas. Se tomaron 337 muestras de 200 pacientes en la consulta de ETS.

Resultados: Las muestras correspondían a: 144 endocervicales, 51 uretrales, 122 orinas y 12 rectales. La edad media de los pacientes fue 34,14 años (intervalo: 16-78 años). Un 58% de los pacientes que vinieron a nuestra consulta estaban asintomáticos. Un 10% de las orinas inhibieron la amplificación. En 15 pacientes (3 rectales, 7 endocervicales, 7 uretrales y 4 orinas) se encontraron resultados positivos: BDProbeTec y cultivo en 13 muestras y BDProbeTec en 8 muestras: 2 endocervicales de una mujer con leucorrea y otra con dolor pélvico, 3 uretrales de 2 pacientes, uno con uretritis y otro de control tras tratamiento por uretritis y 3 orinas de dos hombres uno con uretritis y otro asintomático.

Conclusiones: La inexistencia de falsos negativos hacen que esta técnica presente una muy buena especificidad. De acuerdo con la clínica presentada, los antecedentes personales (varias parejas/año) y los datos de laboratorio (leucocitos valorables) las muestras positivas sólo por BDProbeTec, bien podían tratarse de infecciones producidas por *C. trachomatis*. Estos resultados hacen que esta prueba resulte de interés para aquellos laboratorios sin posibilidad de realizar cultivos celulares para la identificación de *C. trachomatis*.

Sesión 5 Infecciones micóticas

089

INFECCIONES FÚNGICAS POR GÉNEROS DISTINTOS DE *ASPERGILLUS* Y *CANDIDA* EN PACIENTES HEMATOLÓGICOS

R. Andreu, I. Jarque, J. Pemán, G. Martín, M. Salavert, P. Lorente, A. Camps, M. Gobernado y M.A. Sanz

Servicios de Hematología, Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario La Fe, Valencia.

Objetivos: Evaluar las características clínicas, micológicas y evolutivas de las infecciones fúngicas (IF) por géneros distintos de *Candida* y *Aspergillus* en pacientes con enfermedades hematológicas.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de las IF no causadas por *Candida* ni *Aspergillus* diagnosticadas en una Unidad de Hematología y Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos (TPH) entre 1981 y 2001.

Resultados: Treinta y dos pacientes (edad mediana de 46,5 años, 18 varones) desarrollaron 33 IF. Entre las enfermedades de base, la leucemia aguda fue el diagnóstico más frecuente (72%). En 8 pacientes (25%) se realizó un TPH y 23 (72%) eran portadores de catéter venoso central. Hubo neutropenia prolongada en 24 casos (68%) y 27 enfermos (77%) recibieron antibioterapia de amplio espectro. De los 6 pacientes sometidos a TPH alogénico, 5 estaban en tratamiento por enfermedad injerto contra huésped (EICH) crónica. Se aislaron 13 levaduras [*Trichosporon* spp (7), *Cryptococcus* spp (2), *Saccharomyces cerevisiae* (2), *Hansenula anomala* (1), *Blastoschizomyces capitatum* (1)] y 20 hongos filamentosos [*Scedosporium* spp (6), *Mucor* spp (5), *Fusarium* spp (3), *Geotrichum capitatum* (3), *Acremonium* spp (2) y *Rhizopus microsporus* (1)]. El foco infeccioso más frecuente fue el pulmonar (13 casos), seguido de la piel y tejidos blandos (6). Cursaron con fungemia 16 episodios, 7 de ellas primarias. Fueron tratados con diferentes formulaciones de anfotericina-B 30 pacientes y 13 de ellos (43%) sobrevivieron. No hubo diferencias respecto a la mortalidad entre los casos de infección por levaduras (8/13) o los causados por hongos filamentosos (11/20).

Conclusiones: La infección por hongos emergentes es una importante causa de morbilidad en los enfermos hematológicos con neutropenia o EICH, destacando el foco de origen pulmonar como forma más habitual de presentación clínica.

090

ESTEROIDES Y ASPERGILOSIS INVASIVA (AI)

M. Rivero, L. Torroba, J.M. Murie, G. Tiberio, A. Gil y C. Pérez

Hospital Virgen del Camino. Pamplona.

Objetivo: Describir la aparición de AI en pacientes con tratamiento esteroideo como único factor de riesgo.

Métodos: Tras la revisión de los aislamientos de *Aspergillus* sp y autopsias realizadas de enero/1996 a diciembre/2000 se diagnosticaron 12 casos de AI en pacientes cuyo único factor de riesgo era la administración de esteroides.

Resultados: Los 12 pacientes eran varones y la edad media de 77 años (rango 71-86). La enfermedad de base y motivo del tratamiento esteroideo fue: EPOC (n = 6), fibrosis pulmonar (n = 2), púrpura trombopénica idiopática (n = 2), co-

litis ulcerosa (n = 1) y poliangéitis microscópica (n = 1). La dosis acumulada de prednisona o equivalente administrada antes del desarrollo de la AI fue de 4940 mg (rango 1556-12345), la duración media de 314 días (rango 20-1127) y la dosis diaria media de 57 mg (rango 5-152). La adquisición fue comunitaria en 5 casos y nosocomial en 7. Todos tuvieron afectación pulmonar y 3 extrapulmonar. Las manifestaciones radiológicas fueron: infiltrado focal unilateral (n = 6), bilateral (n = 3) y nódulos pulmonares (n = 3). La AI no fue sospechada en vida en 3 pacientes. El diagnóstico se pudo confirmar en 6 casos (5 por necropsia y 1 por biopsia transbronquial). En 2 pacientes no se pudo suspender el tratamiento esteroideo debido a su enfermedad de base. La mortalidad global fue del 92% (11/12) y la atribuida a la AI del 75% (9/12) tras una media de 12 días del inicio del tratamiento.

Conclusiones: La administración de esteroides por cualquier tipo de patología, no solamente en la EPOC, predispone a la aparición de AI aún en ausencia de los clásicos factores de inmunodepresión. Se debe considerar siempre este diagnóstico ante un infiltrado pulmonar, nosocomial o comunitario, en pacientes con tratamiento esteroideo generalmente prolongado o a dosis elevadas. En estos pacientes "menos inmunodeprimidos" la mortalidad por AI sigue siendo muy elevada: es fundamental el inicio precoz del tratamiento antifúngico y la supresión en lo posible del tratamiento esteroideo.

091

CULTIVOS AMBIENTALES DE *ASPERGILLUS SPP* EN QUIRÓFANOS DURANTE OBRAS

C. Ezpeleta, E. Gómez, I. Atutxa, J. Martínez, I. Lopategui, C. Busto, J. Unzaga y R. Cisterna

Microbiología. Hospital de Basurto. Bilbao.

Objetivo: Conocer niveles de *Aspergillus* durante obras que incluyeron la demolición del pabellón central del hospital. Comparación con niveles previos y eficacia de las medidas preventivas adoptadas.

Métodos: Medición de niveles ambientales por medio del impactador "Merck air sampler". Volumen: 1.000 litros/toma en el centro del quirófano. Unidades estudiadas: 14 quirófanos. Desde 1999 se realizan cultivos mensuales en los quirófanos de traumatología, neurocirugía, cirugía cardíaca, vascular y oftalmología. En el resto de quirófanos se realizan tomas semestrales. Durante el período de obras se ha aumentado la frecuencia de muestreo hasta realizar controles diarios en los quirófanos de mayor riesgo. Se aplicaron las recomendaciones para prevención recomendadas por los CDC. El mantenimiento de los sistemas de ventilación se realiza de acuerdo a la normativa de minimización de Osa-kidetza y se registran rigurosamente los controles preestablecidos.

Resultados: Se han realizado 1.211 cultivos de aire, 304 previos al comienzo de las obras en 1999, 2000 y primer trimestre del 2001. Porcentaje de cultivos positivos en 1999: 4,61%, año 2000: 2,75%, y 2001: 7,79%. Rango de ufc/1.000 litros aire en 1999: 0-6, en 2000: 0-8 y año 2001: 0-15. Media de ufc/1.000 litros aire se ha mantenido en niveles inferiores a 1 ufc/1.000 litros aire durante el período previo y posterior al comienzo de las obras. La media de ufc alcanzó su nivel máximo en mayo de 2000 0,8 ufc/1.000 litros.

Conclusiones: La media de ufc no ha aumentado durante el período de obras y se ha mantenido por debajo de 1 ufc/1000 litros. Las medidas de prevención adoptadas han demostrado su eficacia. No se ha detectado ningún caso de infección quirúrgica hasta el momento. Los resultados positivos han sido atribuidos en todos los casos a deficiencias en limpieza y/o circulación del personal sin implicación de los sistemas de ventilación.

092

MUCORMICOSIS GÁSTRICA (MG) EN UCI: BROTE DE INFECCIÓN NOSOCOMIAL ASOCIADO A DEPRESORES DE LENGUA DE MADERA

E. Maraví-Poma, Jiménez I, J. Ramos, J. García de Jalón¹, L. Torroba² y J.L. Rodríguez-Tudela³

¹Unidad de Cuidados Intensivos, ²Medicina Preventiva,

³Microbiología. Hospital Virgen del Camino, Pamplona y

³Unidad de Micología, CNM, Majadahonda-España.

Objetivo: Información del primero y único brote de MG con mecanismo de infección infrecuente.

Métodos: Análisis epidemiológico caso/control, durante 5 meses entre Nov-95 a Marzo-96. Se analiza 5 casos con MG infectados con *Rhizopus microsporus*, ingresados en UCI de un hospital general de 560 camas. Ante la sorpresa de los primeros casos, diagnosticados mediante gastroscopia y estudio histológico, se puso en marcha un programa de estudio epidemiológico, con especial atención a la vía naso-buco-gástrica. Tanto las muestras epidemiológicas como las biológicas se cultivaron por técnicas estándar. Los hongos filamentosos con hifas no-septadas fueron identificados como agentes de Mucormycosis gástrica y enviadas al Centro de Referencia³.

Resultados: De los 5 pacientes con afectación gástrica por *Mucor* spp, uno de ellos post-mortem, tres fallecieron. Los pacientes tenían un SDRA y MOD prolongado, mostrando como signo inicial hemorragia digestiva alta secundaria a lesiones ulceradas y sangrantes en el ámbito de la mucosa gástrica. En un niño con epiglotitis se aisló el *Mucor* en faringe, que evolucionó favorablemente con medicación habitual. La fuente de infección se identificó como depresores linguales de madera, que se empleaban en la preparación de las disoluciones de medicamentos administrados a través de la sonda nasogástrica. El brote finalizó tras la retirada de estos depresores de madera. La causa del brote fue el cambio reciente de proveedor, dentro de un programa de recorte económico.

Conclusión: El vehículo de transmisión de la MG puede ser los depresores de lengua de madera, especialmente en inmunodeprimidos. Los productos sanitarios deben tener exigencias de calidad que garanticen la higiene.

093

SCOPULARIOPSIS BREVICAULIS: UN HONGO PATÓGENO QUE PRESENTA MULTIRRESISTENCIA IN VITRO A LOS ANTIFÚNGICOS

M. Cuenca-Estrella, E. Mellado, A. Gómez-López, A. Monzón y J.L. Rodríguez-Tudela

Servicio de Micología. CNM.ISCIII.

Objetivos: *Scopulariopsis brevicaulis* es un hongo hifomiceto que origina onicomicosis con cierta frecuencia. En ocasiones puede causar infecciones cutáneas y queratitis, además de micosis invasoras como endocarditis, neumonía y endoftalmitis. Aunque existen referencias anecdóticas sobre su resistencia a la anfotericina B y otros antifúngicos, se desconoce su perfil de sensibilidad. El objetivo de este estudio es determinar la sensibilidad in vitro de las cepas clínicas de *S. brevicaulis* recibidas en el Centro Nacional de Microbiología, durante los dos últimos años.

Métodos: Se incluyeron 18 cepas clínicas procedentes de 12 centros sanitarios españoles. Las cepas fueron identificadas por métodos habituales. El estudio de sensibilidad se realizó empleando la microdilución en caldo, siguiendo las directrices del NCCLS, documento M38-P, con mínimas modificaciones (RPMI-2% glucosa e inóculo final de 10⁵ UFC/ml). Se determinaron las CMI de anfotericina B (AMB), fluorocitosina (FLR), itraconazol (ITZ), voriconazol (VRZ), ravuconazol (RVZ) y terbinafina (TBF).

Resultados. Todas los hongos provenían de muestras superficiales: 14 de raspados ungueales y 4 de escamas cutá-

neas. En 11 casos no existían antecedentes de terapia antifúngica previa. Todos los antifúngicos presentaron CMIs muy elevadas para todas las cepas analizadas. La moda y la media geométrica por antifúngico fueron: (i) AMB, 16 mg/l, 13 mg/l; (ii) FLR, > 128 mg/l, > 128 mg/l; (iii) ITZ, > 8 mg/l, > 8 mg/l; (iv) VRZ, 32 mg/l, 25,8 mg/l; (v) RVZ, > 64 mg/l, > 64 mg/l; (vi) TBF, > 16 mg/l, 14,4 mg/l.

Conclusiones. (I) *S. brevicaulis* es un hongo resistente in vitro a todos los antifúngicos que se utilizan en el tratamiento de las infecciones graves por hongos filamentosos, así como a varias de las nuevas moléculas antifúngicas (II) Es probable que esta especie sea intrínsecamente resistente a los antifúngicos. (III) Ante una infección invasora deben valorarse estrategias terapéuticas que tomen en cuenta este perfil de sensibilidad (terapia combinada, inmunomoduladores, cirugía...).

094

ANÁLISIS DE LAS CANDIDEMIAS PRODUCIDAS EN UN SERVICIO DE HEMATOLOGÍA EN UN PERÍODO DE 10 AÑOS

A. Rodríguez, M. Álvarez, F. Pérez y C. Rayon*

Servicio de Microbiología I y Hematología* Hospital Central de Asturias.

Propósito: Determinar las características de los enfermos que presentan candidemias en una unidad de hematología con especial atención a los factores predisponentes.

Métodos: Dentro de un estudio general de candidemias se analizaron de forma retrospectiva entre 1989-1999, 32 episodios distintos en pacientes ingresados en el servicio de Hematología.

Resultados: Se recogieron 32 candidemias en 32 pacientes adultos (53% varones) con estancia media de $20,3 \pm 17,64$ días. Los factores predisponentes más frecuentes fueron: tto inmuosupresor (98%) tto antibiótico previo (94%) granulocitopenia (75%), diabetes (9,5%), trasplante de medula ósea (9,4%) y cirugía (6,3%). El 87,5% de los pacientes eran portadores de un catéter que en el 12,5% de los casos se utilizó para nutrición parenteral. *Candida albicans* fue responsable del 68% de las infecciones, seguida de *C. Parasilopsis* (15%), *C. krusei* (6%), *C. glabrata*, *lypolitica* y *guillermundii* (3% respectivamente). En dos enfermos la candidemia se originó en el catéter, en dos era de foco respiratorio, en uno urinario y en el resto no se encontró foco. El 40,6% de los enfermos desarrolló un shock séptico. El 66% de los enfermos se trataron con anfotericina B, 22% con fluconazol y el resto no recibieron tratamiento. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento. Fallecieron 14 enfermos a consecuencia directa de la infección (43,8%). La ausencia de tratamiento se relacionó con la mortalidad ($p > 0,002$). Desde el punto de vista de la mortalidad no se encontraron diferencias significativas entre los microorganismos responsables ni el tratamiento recibido.

Conclusiones: 1) Las candidemias se acompañan de una elevada mortalidad en pacientes hematológicos. 2) *Candida albicans* continua siendo el patógeno más frecuente. 3) Aunque la anfotericina B continua siendo el tratamiento más utilizado no se han encontrado diferencias significativas entre ambos grupos.

095

ANÁLISIS DE LAS CANDIDEMIAS EN UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS (UCI) EN UN PERÍODO DE 10 AÑOS

A. Rodríguez, M. Álvarez, F. Pérez y A. Blanco*

Servicio de Microbiología I y *Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital Central de Asturias.

Propósito: Determinar las características de los enfermos que presentan candidemias en una UCI con especial atención a los factores predisponentes.

Métodos: Dentro de un estudio general de candidemias se analizaron de forma retrospectiva entre 1989-1999, 32 episodios distintos en pacientes ingresados en la UCI.

Resultados: Se recogieron 21 candidemias en 21 pacientes adultos (72% varones, edad media 52 años) con una estancia media de $18,8 \pm 10,36$ días. Los factores predisponentes más frecuentes fueron: cirugía (66,7%), ADVP (23,8%) cirrosis (9,5%) y diabetes (9,5%). Todos los pacientes habían recibido tratamiento antibiótico previo. Todos los enfermos estaban conectados a ventilación mecánica, eran portadores de sonda vesical y tenían catéteres centrales que en el 66,7% se usaban para nutrición parenteral. Los microorganismos más frecuentes fueron: *C. Albicans* (68%), *C. Parasilopsis* (14,3%) *C. tropicalis* (9,5%), *C. krusei* (4,8%), *C. Glabrata* (,8%). En el 19% la candidemia se originó en el catéter, el 14% tenía una infección de herida quirúrgica y en el resto no se encontró foco. El 38% de los enfermos desarrolló un shock séptico, acompañado de SDRA en el 19%. El fluconazol fue el tratamiento más utilizado (43%). La anfotericina se usó en 24% y el resto no recibió tratamiento. No se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos de tratamiento. Fallecieron 10 enfermos a consecuencia directa de la infección (47,6%). La ausencia de tratamiento se relacionó con la mortalidad ($p > 0,002$).

Conclusiones: 1) Las candidemias son frecuentes en las UCIs asociadas al uso de antibióticos de amplio espectro y a la presencia de cirugía previa. 2) Se acompañan de una elevada mortalidad. 3) El fluconazol ha demostrado ser un tratamiento eficaz en estos enfermos.

096

FACTORES DE RIESGO DE CANDIDEMIA EN EL PACIENTE CRÍTICO SIN NEUTROPENIA. ESTUDIO MULTICÉNTRICO

R. Jordà, F. Álvarez, M. Palomar, C. León, J. Nolla, A. Arizmendi, y Grupo EPCAN

Servei Medicina Intensiva Hospital Universitario Son Dureta.

Objetivo: Valorar los factores clínicos de riesgo en la aparición de candidemia (C) en una población de pacientes críticos con estancia ≥ 7 días.

Método: Estudio multicéntrico, prospectivo, observacional. Se consideró candidemia al aislamiento de *Candida sp.* como mínimo en un hemocultivo. El análisis estadístico de los factores de riesgo se realizó de forma univariante (Test Fisher, U de Man-Whitney, ANOVA) y multivariante (regresión logística).

Resultados: Se incluyeron 1765 pacientes en un período de 7 meses, de los cuales 63 presentaron C (3,5%) y en 720 (40,7%) no se detectó crecimiento fúngico (Con); el resto se descartaron del análisis al presentar otra infección fúngica (102; 5,8%) o colonización (880; 49,8%). No existieron diferencias respecto edad, sexo, o nivel de APACHE II. El análisis univariante mostró como factores relacionados con C: cirugía urgente (26 C [41,3%] vs 162 Con [22,5%]; $p < 0,002$); NPT (53 C [84,1%] vs 275 Con [38,2%]; $p < 0,0001$); depuración extrarrenal (20 C [31,7%] vs 56 Con [7,8%]; $p < 0,001$); tiempo (t)^o hospitalización ($54,7 \pm 39,3$ C vs $42,2$ Con; $p < 0,0001$); t^o UCI ($34,9 \pm 24,9$ C vs $18,5 \pm 14,3$; $p < 0,0001$); t^o CVC ($34,8(22,3$ C vs $17,5 \pm 12,3$ Con, $p < 0,0001$); t^o SV ($34,6 \pm 25,3$ C vs $17,8 \pm 14,0$ Con; $p < 0,0001$); t^o ventilación ($28,6 \pm 22,0$ C vs $14,6 \pm 13,9$; $p < 0,0001$); t^o NPT ($19,9 \pm 19,8$ C vs $11,4 \pm 7,9$ Con; $p < 0,0001$); y t^o nutrición enteral ($25,2 \pm 22,6$ C vs $14,7 \pm 14,8$ Con $p < 0,0001$). El análisis multivariante discriminó como factores independientes: NPT (RR 6,9; IC95% 2,7-17,6), depuración extrarrenal (RR 2,8; IC95% 1,1-7,0), y el t^o CVC (RR 1,04; IC95% 1,03-1,06).

Conclusiones: En el paciente crítico con estancia (7 d, el uso de NPT, o depuración extrarrenal, o catéter venoso, de forma prolongada, son factores de riesgo asociados a candidemia.

097

REPERCUSIONES ECONÓMICAS DE LA COLONIZACIÓN E INFECCIÓN POR HONGOS EN LOS PACIENTES CRÍTICOS

P.M. Olaechea, M. Palomar, C. León, J. Nolla, R. Jordá, M.A. León y Grupo EPCAN

Unidad de Cuidados Intensivos. Hospital de Galdakao. Vizcaya.

Objetivo: Evaluar las consecuencias económicas de la colonización e infección por hongos en pacientes ingresados en UCI más de 7 días.

Método: Estudiamos 1.765 pacientes ingresados más de 7 días en 73 UCIs participantes en el proyecto EPCAN entre mayo-1998 y enero-1999. Se extrajeron cultivos de vigilancia semanales buscando hongos en orina, broncoaspirado, orofaringe y aspirado traqueal. Clasificamos los pacientes en tres grupos: Colonizados (C) (915): cuando se aislaron hongos en muestras obligadas; Infectados (I) (105): cuando se aislaron hongos en muestras significativas, con síntomas clínicos; y No colonizados ni infectados (NCI) (745). Analizamos variables demográficas, tratamiento, estado al alta, estancia en UCI (E-UCI) y hospitalaria (E-H). La media de costo por estancia se obtuvo de la contabilidad hospitalaria. Se realizaron estudios no paramétricos y análisis multivariante de regresión de Cox.

Resultados: La mediana de días de E-UCI fue significativamente mayor en pacientes con APACHE II > 15 (19 vs.17), tratados con antibióticos (18 vs.11) o con antifúngicos (27 vs.16) con respecto a los no tratados. 437 pacientes recibieron tratamiento antifúngico sistémico por infección fúngica invasiva (123), colonización múltiple por *Candida* (284) o terapia empírica (30). Los pacientes que sufrieron toxicidad por el antifúngico o que fueron tratados con más de uno tuvieron una mayor E-UCI (40 vs.27 y 33 vs.27 respectivamente). Los pacientes I tuvieron una E-UCI superior a los C y a los NCI (27, 21 y 14 días; $p < 0,001$). Al estudiar solo los supervivientes, la E-H fue de 53,4 (IC 95%: 44,0 - 62,9), 41,8 (IC 95%: 38,5 - 45) y 31,7 (IC 95%: 28,8 - 34,6) días en cada uno de los grupos. Ajustadas por las variables relevantes, el exceso de E-H para pacientes C e I con respecto a NCI fue de 8,6 y 15,5 días, es decir, un costo añadido entre 5.830 y 16.000 euros.

Conclusión: En pacientes críticos la colonización e infección fúngica se asocia con exceso de estancia y costo elevado, pero varía ampliamente dependiendo de la respuesta al tratamiento antifúngico y de su toxicidad.

098

DISTRIBUCIÓN DE LA CANDIDEMIA EN EL HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES EN LOS ÚLTIMOS CINCO AÑOS

R. Yeste, M.C. Fernández, M.D. Pérez, R. Aldaz, S. Yagyes, C. Miranda y M. de la Rosa

Hospital Virgen de las Nieves. Granada.

Introducción: La incidencia de infección intravascular por *Candida* ha aumentado en los últimos años, probablemente debido al uso indiscriminado de antimicrobianos y al aumento de pacientes susceptibles.

Objetivos: Conocer el número de aislamientos de *Candida* en hemocultivos y su distribución en los diferentes servicios de nuestro hospital

Material y métodos: Se estudiaron un total de 207 aislamientos de levaduras en hemocultivos entre enero de 1995 y diciembre de 2000 (2,32% del total de hemocultivos positivos). Los hemocultivos se procesaron mediante el sistema BACT-ALERT. Para la identificación de las distintas especies de *Candida* se utilizaron pruebas convencionales y el sistema API 20C AUX.

Resultados: Los servicios en los que se detectaron más casos de candidemia, fueron por orden de frecuencia: UCI general (38,9%), UCI pediátrica (26,8%), Medicina Interna

(22,8%), y Hematología (8,7%). La tasa de aislamientos de *C. albicans* frente a no *albicans* fue: UCI general, 45 vs 55% (50% *C. parapsilosis*, 40% *C. tropicalis*, 10% *C. Krusei*); UCI pediátrica, 30 vs 70% (94,1% *C. parapsilosis*, 5,9% *C. inconspicua*), Medicina Interna, 64,7 vs 35,3% (*C. tropicalis* y *C. glabrata* 37,5% cada una, *C. lipolytica* 12,5%, *C. parapsilosis* 12,5%), Hematología, 33 vs 77% (*C. parapsilosis* 50%, *C. glabrata* 16,6%, *C. Krusei* 16,6% y *C. lusitanae* 16,6%).

Conclusiones: En el total de aislamientos en el período estudiado se ha observado un ligero predominio de *Candida* no *albicans* (53,6%) frente a *Candida albicans* (46,4%). En todos los servicios existe un predominio de *Candida* no *albicans*, a excepción del servicio de Medicina Interna que muestra un mayor porcentaje de aislamientos de *Candida albicans*. Destaca el aislamiento de *C. parapsilosis* en cuidados intensivos pediátricos.

099

ESTUDIO DESCRIPTIVO DE CANDIDEMIAS EN EL HOSPITAL UNIVERSITARIO INSULAR DE GC. 1995-2000

O. Afonso, M. Bolaños, J.M. Limiñana¹, M. Sánchez-Palacios² y A.M. Martín

Servicio de Microbiología. ¹Unidad de Investigación. ²UMI. HUIGC.

Objetivos: Conocer las características clínicas y epidemiológicas de las fungemias por *Candida* spp en nuestro medio y sus factores pronósticos.

Material y métodos: Se revisaron de forma retrospectiva las historias clínicas de 83 pacientes ingresados en el HUIGC que habían presentado al menos un hemocultivo positivo (BacT-Alert 240[®]) con alguna especie de *Candida* entre Enero de 1995 y Diciembre de 2000. La identificación se realizó mediante el test de filamentación en tubo y el Api CAUX (bioMérieux).

Resultados: La incidencia anual de candidemias fue de 4,4/100.000 habitantes representando el sexto microorganismo más frecuentemente aislado en hemocultivos. La edad media de los pacientes fue de 53,2 ± 21,5 años. El 60,2% eran varones. Todas las candidemias fueron nosocomiales. Las distintas especies aisladas fueron: *C. albicans* (n=38), *C. parapsilosis* (n = 14), *C. tropicalis* (n = 12), *C. glabrata* (n = 8), *C. spp* (n = 8), *C. krusei* (n = 2) y *C. lusitanae* (n = 2). En 16 episodios se aisló más de una especie de *Candida*. Como antecedentes destacaban la antibioterapia durante los 7 días previos (97,6%), el sondaje urinario (73,5%), la presencia de una vía venosa central (63,8%), la nutrición parenteral (44,6%), la cirugía mayor reciente (42,2%), la enfermedad oncológica (33,7%), la neutropenia (8,5%) y la infección VIH (6%). El 54,2% de los pacientes recibió tratamiento antifúngico y el 8,4% había recibido profilaxis. La mortalidad media por candidemia fue del 39,8% y se asoció significativamente a la presencia de sondaje urinario y la estancia en UMI ($p < 0,05$). El factor más asociado a un mejor pronóstico fue la administración de antifúngicos.

Conclusiones: Las candidemias de origen nosocomial son habituales en nuestro medio siendo *C. albicans* la especie más frecuentemente aislada en hemocultivos. Encontramos una elevada mortalidad asociada a la candidemia. El tratamiento antifúngico es el factor más asociado a un mejor pronóstico.

100

CARACTERÍSTICAS DE LAS CANDIDEMIAS DETECTADAS EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL (1998-2001)

E. Cañas, R. Valencia, A. Fernández-Freire, M.J. Gómez-Gómez, C. Regordán, J.M. Cisneros, R. Luque y M. Bernabeu

Serv. Enfermedades Infecc. H U Virgen del Rocío. Sevilla.

Objetivo: Conocer la incidencia y las características epidemiológicas y clínicas de las candidemias detectadas en adul-

tos hospitalizados en el H.U Virgen del Rocío de Sevilla entre enero de 1998 y junio de 2001.

Métodos: Estudio longitudinal retrospectivo. Métodos descriptivos utilizando el paquete estadístico SPSS v.10.

Resultados: Incidencia acumulada 8,73 episodios/10.000 ingresos. Se recogieron 123 episodios en 99 pacientes. La edad media de los pacientes fue de 57,5 años (DS 19,4) y el 64% fueron varones. En el 92% de los pacientes la adquisición fue nosocomial, con una mediana de estancia previa de 20,5 días (rango 3-241). El 77% presentaba una enfermedad de base crónica (20% rápidamente fatal). *Áreas de hospitalización:* médica (32%), UCI (27%), quirúrgica (26%) y onco-hematología (15%). *Factores predisponentes:* cirugía previa (60%), trasplante (3%), infección por el VIH (4%), UDVP (3%), neutropenia (9%), estancia en UCI (52%), tratamiento antimicrobiano previo (94%), uso de corticoides sistémicos (20%), nutrición parenteral (37%), portador de catéter venoso central transitorio (67%) o permanente (8%). *Especies aisladas:* *C.albicans* (40%), *C.parapsilosis* (20%), *C.tropicalis* (14%), *C.glabrata* (13%), otras (13%). *Polimicrobianas:* 18%. *Origen:* catéter intravascular (39%), desconocido (32%), intraabdominal (10%), urinario (8%), otros (11%). *Clínica:* En el 27% de los pacientes debutó con shock séptico (27%). Afectación secundaria de otros órganos (11%), incluyendo 2 endocarditis. *Tratamiento:* 76 pacientes recibieron tratamiento específico (médico-quirúrgico en el 10% de ellos). El fármaco más utilizado inicialmente fue fluconazol (66%). La duración mediana del tratamiento antifúngico fue de 14 días. En 59 pacientes (78%) el tratamiento recibido fue considerado apropiado de acuerdo a las recomendaciones internacionales actuales. *Mortalidad* a los 30 días 42%.

Conclusiones: Incidencia y mortalidad similares a otras series. 60% especies *no albicans*. Fluconazol es el antifúngico más utilizado inicialmente.

101

FUNGEMIA POR *CANDIDA KRUSEI*: UNA ENTIDAD RARA CON FRECUENTES MANIFESTACIONES CUTÁNEAS

P. Muñoz, L. Alcalá, T. Peláez, M. Rodríguez, R. Alonso y E. Bouza

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid.

Introducción: Las infecciones por *Candida krusei* se describen en pacientes graves, previamente expuestos a azoles. Esta especie es resistente a fluconazol (FLU) y puede serlo a anfotericina B (AMB).

Objetivo: Determinar la incidencia y características clínicas de la fungemia por *C. krusei* en nuestra institución y su patrón de sensibilidad.

Métodos: Entre 1988 y 2000 se detectaron 420 episodios de fungemia, de los que 11 correspondieron a *C. krusei* (2,6%). La sensibilidad a antifúngicos se determinó mediante el método de microdilución (M-27A, NCCLS) suplementando el medio RPMI con 2% de glucosa.

Resultados: La distribución anual de los casos fue: 5 pacientes en 1990, 2 en 1992, y uno en 1994, 1996, 1997 y 2000. 8 pacientes eran varones y la edad media fue de 48 años (8 meses-67 a). Todos los pacientes tenían alguna enfermedad de base: inf. VIH (3), neoplasias hematológicas (4), trasplante de órgano (2) e intolerancia a la lactosa (1). La fungemia fue de adquisición comunitaria en 3 casos (2 ADVP y un bebé con diarrea). Los 3 pacientes con leucemia aguda presentaron lesiones cutáneas relacionadas. Hubo coriorretinitis en 2 pacientes e infiltrados pulmonares en 3. Cinco pacientes habían recibido previamente antifúngicos (3 nistatina, 1 FLU y una fungemia de brecha mientras se administraba itraconazol). El tratamiento consistió en la administración de AMB en 8 casos (2 muertos) y FLU en 1 caso (cura). La mortalidad global fue del 30%. Las CMIs₉₀ frente a AMB, flucitosina, quetoconazol, FLU e itraconazol fueron respectiva-

mente 1, 8, 1, 32 y 0,5 µg/ml. El único azol estudiado que mostró buena actividad *in vitro* frente a *C. krusei* fue voriconazol (CMI 0,125 µg/ml).

Conclusión: La fungemia por *C. krusei* sigue siendo infrecuente a pesar del amplio uso de azoles. Los pacientes VIH (+) y los hematológicos son los grupos más afectados. Voriconazol podría ser una opción terapéutica interesante en estos casos.

102

FACTORES DE RIESGO DE CANDIDURIA EN PACIENTES CRÍTICOS

F. Álvarez-Lerma, J. Nolla y Grupo EPCAN

UCI. Hospital del Mar. Barcelona.

Objetivo: Determinar las características de los pacientes críticos con candiduria y los factores de riesgo que facilitan su aparición.

Métodos: Estudio de cohortes prospectivo, observacional y multicéntrico. A todos los pacientes ingresados en UCI más de 7 días, se les han practicado cultivos de orina, una vez a la semana. Las muestras fueron procesadas por los distintos laboratorios de los hospitales participantes, utilizando medios específicos (Sabouraud) utilizando el método BACTEC para la identificación de especies y el sistema A20C (Byomerieux) para su identificación. Se definió la candiduria como la presencia de $> 10^4$ ufc de *Candida sp* en orina. Para cada paciente se obtuvieron datos demográficos, de patologías de base y asociadas, factores de riesgo y tratamientos previos. Para identificar los factores de riesgo se ha realizado una regresión logística con las variables significativas en el análisis bivariado.

Resultados: Se han incluido 1.765 pacientes ingresados > 7 días, en las 70 UCIs participantes, durante el período de mayo 98 a enero 99. En 389 pacientes se han identificado una o más *Candida sp* en orina. Los factores de riesgo individual relacionados con candiduria han sido: utilización previa de antibióticos (OR 2,48; IC 95% 1,03-6,01, $p = 0,043$), sexo (mujer) (OR 2,35, IC95% 1,86-2,99, $0 < 0,0001$), Edad > 65 años (OR 1,47, IC95% 1,15-1,86, $p = 0,0017$), diabetes mellitus (OR 1,86, IC95% 1,37-2,54, $p = 0,0001$), estancia previa en el hospital (OR 1,01, IC95% 1,003-1,02, $p = 0,0075$), ventilación mecánica (OR 2,73 IC95% 1,5-5,0, $p = 0,011$) y NTP (OR 1,82 IC 95% 1,43-2,32, $p < 0,0001$).

Conclusiones: Se ha identificado el perfil del paciente crítico que desarrolla una candiduria. La mayoría de los factores de riesgo no son modificables.

103

CANDIDURIA EN EL PACIENTE CRÍTICO

F. Álvarez-Lerma, J. Nolla, y Grupo EPCAN

UCI. Hospital del Mar. Barcelona.

Objetivo: Determinar las frecuencias de las distintas especies de *Candida sp.* en la orina de pacientes críticos ingresados en Servicios de Medicina Intensiva (UCI).

Métodos: Estudio de cohortes prospectivo, observacional y multicéntrico. A todos los pacientes ingresados en UCI más de 7 días, se les han practicado cultivos de orina, una vez a la semana. Las muestras fueron procesadas por los distintos laboratorios de los hospitales participantes, utilizando medios específicos (Sabouraud) utilizando el método BACTEC para la identificación de especies y el sistema A20C (Byomerieux) para su identificación. Se definió la candiduria como la presencia de $> 10^4$ ufc de *Candida sp* en orina. Las frecuencias se expresan en incidencia acumulada (%) y en densidad de incidencia (episodios por 1.000 días de sonda uretral)

Resultados: Se han incluido 1.765 pacientes ingresados > 7 días, en las 70 UCIs participantes, durante el período de mayo 98 a enero 99. De ellos, 1.730 (98%) eran portadores de sonda uretral, con 40.273 días de sondaje. En 389 pacientes se han identificado una o más *Candida sp* en orina. Tasa de candiduria: 22 por 100 pacientes/UCI. Densidad incidencia de: 9,5 por 1.000 días de sonda uretral. En 23 casos se han identificado con bacterias (5,9%) en las que predominan los BGN (13 casos), en especial *P. aeruginosa* (5) y *E. coli* (3) y CGP (10 casos) en especial Enterococos (7). Ha predominado *C. albicans* (68,4%), seguido de *C. glabrata* (8,2%), *C. tropicalis* (3,6%), *C. parapsilosis* (2,3) y *C. krusei* (1,3), independientemente de la semana en la que se realizó el aislamiento.

Conclusiones: Un 22% de los pacientes críticos ingresados > 7 días en UCI tienen candiduria. Ha predominado *C. albicans* (68,4%) aunque en uno de cada tres casos se ha aislado una *Candida* no *albicans*.

104

CANDIDIASIS EN EL TRACTO GENITAL FEMENINO

R. Tejero, A. Ibarra, M. J. Linares, J. Muñoz, M. J. Lacasa, R. Gordillo, F. Rodríguez, R. Bañón, F. Solís y M. Casal
Servicio de Microbiología. H.U. Reina Sofía. Córdoba.

Objetivos: Presentar el número de aislamientos e identificación de *Candida spp.* en el tracto genital femenino (TGF).

Material y métodos: Durante el período de febrero a octubre del 2001, hemos recibido en nuestro laboratorio 2.194 muestras, pertenecientes a 2.016 pacientes. Las muestras se procesaron siguiendo la rutina habitual del laboratorio, la identificación se realizó con el medio CHROMagar *Candida* y el API 20C AUX y para la sensibilidad antifúngica (CMI) se utilizó el test comercial Sensititre.

Resultados: Las muestras recibidas se distribuyen en exudados vaginales 2.184 (99,5%), exudado uretral 6 (0,3%) y exudado endocervical 4 (0,2%). Fueron positivos 719 (32,6%) cultivos, y de éstos, en 505 (70,2%) se aisló algún tipo de levadura. Las especies de *Candida* identificadas fueron: *C. albicans* 416 (82,4%), *C. glabrata* 58 (11,5%), *C. parapsilosis* 16 (3,8%), *C. tropicalis* 5 (1,2%), *C. krusei* 4 (0,9%), *C. guilliermondii* 2 (0,5%), *C. lusitania* 2 (0,5%), *C. famata* 1 (0,2%) y *Saccharomyces cerevisiae* 1 (0,2%). Respecto a la sensibilidad antifúngica todas las especies mostraron una alta sensibilidad excepto *C. glabrata* y *C. krusei*. 30 pacientes mostraron candidiasis de repetición por *C. albicans* 26 (86,7%), *C. glabrata* 3 (10%) y *C. krusei* 1 (3,3%). En 14 casos se aislaron 2 especies: *C. albicans-C. glabrata* 11 (78,6%), *C. albicans-C. tropicalis* 2 (14,3%), *C. albicans-C. famata* 1 (7,1%). La edad de las pacientes se agrupa principalmente entre la 3ª y 4ª década, la edad media es de 32,5 en un rango de 2-88 años. El número de aislamientos se mantiene constante a lo largo de los 8 meses estudiados.

Conclusiones: *C. albicans* es la especie más frecuente aislada en el TGF, seguida de *C. glabrata*. Se deben identificar todas las levaduras aisladas para detectar las especies no *albicans* y las infecciones polifúngicas ya que esto repercutirá en el tratamiento.

105

MANIFESTACIONES Y FACTORES DE RIESGO DE LA ESOFAGITIS CANDIDIÁSICA EN PACIENTES NO-VIH

G. Peralta, M.J. López-Arias, L. Martín-Ramos, R. Ortiz, J.L. Fdez-Forcelledo, M.P. Roiz, B. Sánchez y R. Arjona
S. de M. Interna y Microbiología. Hospital Sierrallana. Torrelavega. Cantabria.

Objetivos: Conocer las manifestaciones de la esofagitis candidiásica (EC), y analizar sus factores predisponentes en los pacientes no-VIH de nuestro hospital.

Métodos: Revisión retrospectiva de todas las endoscopias digestivas altas realizadas en nuestro hospital desde enero de 1999 a diciembre del 2000. Los criterios diagnósticos de EC fueron: 1- aspecto endoscópico demostrativo de placas blanquecinas sugestivas de EC + visualización de hifas y/o esporas en la biopsia a extensión del cepillado, o 2- biopsia de una lesión esofágica indicativa de EC.

Resultados: Se han detectado 38 pacientes no VIH con criterios de EC. Las manifestaciones más frecuentes de EC fueron: náuseas (10 pacientes), odinofagia (8), epigastralgia (7) y disfagia (7). Sólo 3 pacientes tuvieron muguet. Sin embargo 28 pacientes (73%) no tuvieron disfagia ni odinofagia que sugirieran esofagitis y en 10 pacientes la EC cursó sin síntomas digestivos altos. En éstos últimos la endoscopia se realizó por anemia en 7 pacientes, estudio de hepatopatía en 1, endoscopia de revisión en 1, y dolor abdominal en 1. Respecto a los procesos de base predisponentes, en 23 pacientes se encontró alguno de los siguientes: EPOC (16), diabetes mellitus (6), etilismo (5), hepatopatía crónica (4), cáncer (1), y lupus eritematoso sistémico (1). Veintiocho pacientes estaban con alguno de los siguientes tratamientos predisponentes: antibióticos (18), esteroides sistémicos (14), o inhalados (11), inhibidores de la bomba de protones (9), inmunosupresores (1). En 8 de los 38 pacientes estudiados (21%) no se encontró factor predisponente aparente.

Conclusiones: La EC no es proceso infrecuente entre pacientes no-VIH, no-oncológicos en nuestro medio. Una proporción no desdeñable de las EC se da en pacientes sin manifestaciones sugestivas de EC y sin factores predisponentes aparentes.

106

IMPORTANCIA CLÍNICA Y PERFIL DE SENSIBILIDAD DE *TRICHOSPORON spp*

M. Cuenca-Estrella, E. Mellado, A. Gómez-López y J.L. Rodríguez-Tudela

Servicio de Micología. Centro Nacional de Microbiología. ISCIII.

Objetivos: *Trichosporon spp.* es un género de hongos que puede causar infecciones cutáneas y a veces, micosis invasoras en pacientes inmunodeprimidos. Las especies que producen los casos en humanos estaban englobadas dentro de la especie *Trichosporon beigelii*, la cual se ha considerado resistente a la anfotericina B. El objetivo de este estudio es determinar los perfiles clínicos y de sensibilidad de las cepas de *Trichosporon* recibidas en el CNM, durante los seis últimos años.

Métodos: Se incluyeron 31 cepas clínicas procedentes de 23 centros sanitarios españoles. Las cepas fueron identificadas por métodos morfológicos y bioquímicos. El estudio de sensibilidad se realizó empleando la microdilución en caldo, siguiendo las directrices del NCCLS, incluyendo las modificaciones del EUCAST-AFST (RPMI-2% glucosa e inóculo final de 10⁵ UFC/ml, lectura espectrofotométrica). Se determinaron las CMIs de anfotericina B (AMB), fluorocitosina (FLR), fluconazol (FLZ), itraconazol (ITZ) y voriconazol (VRZ).

Resultados: La distribución por especies fue la siguiente: *T. asahii* 9; *T. mucoides* 7; *T. inkin* 7; *T. cutaneum* 5; *T. ovoides* 2; y *T. asteroides* 1. La distribución por origen fue: *T. asahii* 100% de muestras profundas (5 de hemocultivos); *T. mucoides* 100% de muestras superficiales; *T. inkin* 43% profundas y 57% superficiales; *T. cutaneum* 20% profundas y 80% superficiales; *T. ovoides* 50% profundas y 50% superficiales; y *T. asteroides* 100% superficiales. *T. asahii* mostró resistencia a AMB (media geométrica de 4 mg/l). El resto de las especies fueron sensibles a AMB (0,5 mg/l). Todas las especies fueron resistentes a FLR (64 mg/l). La sensibilidad a los azoles fue específica de cada cepa, con cepas resistentes a FLZ e ITZ.

Conclusiones: (i) *T. asahii* predomina en las infecciones sistémicas por *Trichosporon*. (ii) *T. asahii* es resistente in vitro a AMB. (iii) Todas las especies analizadas son resistentes a FLR. (iv) La resistencia a los azoles no es específica de especie.

107

ENDOCARDITIS FÚNGICA SOBRE VÁLVULA PROTÉSICA

A. Jiménez, F.J. Escabias, L. Aliaga, J.D. Mediavilla, J.M. Requena, C. Miranda y J.M. Navarro
H.U. Virgen de las Nieves.

Objetivo: Analizar la incidencia, etiología y características clínicas de la endocarditis fúngica sobre válvula protésica en nuestro hospital.

Métodos: Se revisaron las endocarditis sobre válvula protésica (EVP) ocurridas entre 1984 y 2000. En todos los casos se habían realizado hemocultivos seriados utilizando el sistema BACTEC 460 y BacT/AlerT (desde 1992) y material protésico.

Resultados: Se registraron 65 casos de EVP, 18 de estos pacientes presentaron endocarditis fúngica (28%). Los hongos más frecuentemente aislados fueron *Aspergillus fumigatus* (10 casos), *Mucor* sp (6) y *Candida* sp (2). En todos los casos los microorganismos fueron aislados en muestras quirúrgicas. Doce episodios de EVP ocurrieron menos de 2 meses tras la intervención. Las válvulas mecánicas se infectaron en 14 casos y las biológicas en 4. Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron fiebre (82%), soplos cardíacos (71%), fracaso cardíaco (71%), embolismos (12%). La ecocardiografía mostró insuficiencia valvular (27%), abscesos paravalvulares (16%), vegetaciones (22%), aneurismas micóticos (22%). La válvula más frecuentemente afectada fue la aórtica (12 casos), seguido de la mitral (6). Los hemocultivos fueron negativos en todos los casos excepto en los 2 pacientes en que la endocarditis fue debida a infección por *Candida*. Todos los pacientes fueron tratados con Anfotericina B (lipídica en 7 casos) y cirugía. La mortalidad global fue de 78%, incluidos 5 pacientes que recibieron Anfotericina B lipídica.

Conclusión: La endocarditis fúngica sobre válvula protésica presenta una mortalidad muy alta. Las nuevas formulaciones de la Anfotericina B no parecen mejorar los resultados.

108

COMPARACIÓN DE DOS MEDIOS CROMOGENICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS: CHROMagar CANDIDA NUEVA FÓRMULA Y CHROMAGAR CANDIDA

R.M. Claro, M. Ramírez, M.C. Serrano, A. Valverde, S. Bernal, P. Morales, E. Martín Mazuelos
H.V.V. Valme. Sevilla.

Objetivo: Comparación de dos medios cromogénicos, CHROMagar Candida nueva fórmula (medio 1) y CHROMagar Candida (medio 2), de Becton-Dickinson y CHROMagar suministrado por Ditassa respectivamente.

Materiales y método: Se han estudiado 141 cepas procedentes de muestras clínicas, las cuales fueron identificadas por el sistema Vitek 2 de la siguiente forma: 44 *C. parapsilopsis*, 29 *C. albicans*, 19 *C. glabrata*, 19 *C. tropicalis*, 14 *C. krusei*, 4 *C. guilliermondii*, 2 *R. glutinis*, 1 *T. inkin*, 1 *S. cerevisiae*, 1 *C. neoformans*, 1 *C. intermedia*, 1 *G. capitatum*, 1 *C. dubliniensis*, 1 *C. lipolytica*, 1 *C. sphaerica*, 1 *C. lusitanae*, y 1 *C. kefir*. Todas ellas fueron sembradas en placas de ambos medios e incubadas a 35°. La lectura se realizó a las 24 y 48 h.

Resultados: De las 44 *C. parapsilopsis*, 3 no crecen a las 24 h en el medio 1. Aunque todas crecen blancas, 33 (75%) son mucosas y 11 (25%) son rugosas. De las 29 *C. albicans*, a las 24 h en el medio 1, 1 no crece y 10 (22,7%) son blancas, mientras que todas son verdes a las 48 h en ambos medios. *C. glabrata* aparece siempre violeta en ambos medios a las 24 y 48 h, si bien menos intensamente en el medio 1 a las 24 h. Todas las *C. tropicalis* son azules en el medio 2, pero 5 y 3 de ellas aparecen verde oscuro y violeta respectivamente

en el medio 1. *C. neoformans* y *C. intermedia* son blancas y mucosas, mientras que *S. cerevisiae*, *R. glutinis*, *C. guilliermondii*, *C. lipolytica*, *C. sphaerica* y *C. lusitanae* son rosas y de aspecto mucoso. *T. inkin* es verde oscuro, y *C. dubliniensis* de color verde indistinguible de *C. albicans*. *C. kefir* resulta rosa en el medio 1 y blanca mucosa en el medio 2. Todas las *C. krusei* son rosas y rugosas en ambos medios.

Conclusiones: 1) Ninguno de los dos medios permite distinguir *C. albicans* y *C. dubliniensis*. 2) El medio 2 es más útil para la identificación en 24 h de *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis*.

109

IDENTIFICACIÓN RÁPIDA DE C. GLABRATA CON DISCOS DE ASIMILACIÓN DE TREALOSA Y SACAROSA

C. García Esteban, J. Cacho, C. Martín, B. Ramos, P. Díez y J.R. Domínguez

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Getafe. Getafe (Madrid).

C. glabrata es la primera causa de infección por *Candida* sp. distinta de *C. albicans*. Su menor sensibilidad a los imidazoles exige una rápida identificación por si fuera necesario modificar el tratamiento antifúngico.

Objetivo: Valoración de un método rápido con discos de trealosa y sacarosa para la identificación de *C. glabrata*.

Métodos: Se estudiaron 100 levaduras (33 *C. glabrata*, 27 *C. albicans*, 26 *C. parapsilopsis*, 6 *C. krusei*, 2 *C. tropicalis*, y 6 de otras) aisladas de diferentes muestras clínicas. Como control de calidad se utilizaron 2 cepas ATCC. Todas las cepas se identificaron previamente por API 32C (bioMérieux, France). La identificación rápida se realizó con discos de asimilación de trealosa y sacarosa (Rosco, Denmark); el resultado se interpretó como positivo cuando se observaba un color amarillo y como negativo ante un color rojo o anaranjado, tras incubación durante 4 h y 24 h.

Resultados: Todas las cepas de *C. glabrata* (32) fueron trealosa positivas y sacarosa negativas a las 4 h y a las 24 h. Sólo las cepas de *C. tropicalis* (2) fueron también trealosa positivas, pero la sacarosa fueron igualmente positivas a las 4 h. El resto de las levaduras fueron trealosa negativas. De ellas, 34 cepas fueron sacarosa positiva a las 4 h y 32 cepas (22 *C. parapsilopsis*, 2 *C. albicans*, 6 *C. krusei* y 2 *C. lusitanae*) fueron sacarosa negativa a las 4 h, aunque se positivizó a las 24 h en 22 de ellas. Sólo 10 cepas (4 *C. parapsilopsis* y 6 *C. krusei*) fueron sacarosa y trealosa negativas a las 24 h. Se observó discordancia entre los resultados de la incubación de 4 h y 24 h en el 22% de las cepas, pero en ningún caso se modificó la identificación final de *C. glabrata*.

Conclusiones: Los discos de asimilación de trealosa y sacarosa permiten la identificación de *C. glabrata* en 4 horas con una sensibilidad y especificidad del 100%. La sencillez del método permite adaptarlos fácilmente al trabajo del Laboratorio de Microbiología. Esta prueba de identificación es más barata (0,94 euros) que otros métodos rápidos o de larga incubación.

110

EVALUACIÓN DE RAPID YEAST PLUS SYSTEM Y AUXACOLOR SYSTEM PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS AISLADAS DE MUESTRAS CLÍNICAS

C. García Esteban, J. Cacho, C. Martín, J. Gómez, C. Aldea y J.R. Domínguez

Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Getafe. Getafe (Madrid).

Las infecciones por *Candida* sp. han aumentado considerablemente en los últimos años. La identificación de la especie es importante sobre todo por las implicaciones terapéuticas que ello conlleva.

Objetivo: Comparar un método rápido (RapID Yeast Plus System) y uno de larga incubación (Auxacolor) con el sistema de identificación API 32C

Métodos: Se identificaron en paralelo un total de 80 cepas (21 *C. albicans*, 27 *C. glabrata*, 23 *C. parapsilopsis*, 6 *C. krusei* y 3 de otras) con RapID Yeast Plus System (REMEL Inc., USA) y Auxacolor (BIO-RAD, France) aisladas de diferentes muestras clínicas y sólo con Auxacolor 20 cepas más (6 *C. albicans*, 5 *C. glabrata*, 2 *C. parapsilopsis*, 5 de otras, 2 ATCC). Las pruebas se realizaron siguiendo las indicaciones de los fabricantes (incubando 4 h el RapID Yeast Plus System y 24-72 h el Auxacolor). Como método de referencia se utilizó el sistema API 32C (bioMérieux, France).

Resultados: El método RapID Yeast Plus System identificó correctamente 67 de 80 aislados (84%) y el Auxacolor 91 de 100 (91%). Todas las cepas de *C. albicans* (21), *C. glabrata* (27), *C. tropicalis* (2) y *C. krusei* (6) fueron identificadas correctamente por RapID Yeast Plus. Sin embargo la identificación fue errónea en 13 de 23 *C. parapsilopsis* (56,5%). Todas las cepas de *C. tropicalis* (2), *C. krusei* (7) y *C. guillermontii* (1) fueron identificadas correctamente por Auxacolor, sin embargo la identificación fue errónea en 1 de 27 aislados de *C. albicans*, 1 de 32 *C. glabrata*, 4 de 26 *C. parapsilopsis*, 1 de 3 *C. lusitanae*, 1 *C. sake* y 1 *C. famata*.

Conclusiones: Auxacolor tiene una mejor correlación (91%) con API 32C que RapID Yeast Plus System (84%). Sin embargo, debido a su mayor rapidez y fiabilidad para la identificación de las especies aisladas con más frecuencia en muestras clínicas (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*), el RapID Yeast Plus System es un método muy útil para el diagnóstico de las especies de *Candida* en el laboratorio clínico.

111

INVESTIGACIÓN MEDIANTE PCR DE PORTADORES DE *PNEUMOCYSTIS CARINII* EN PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA

R. Torronteras, J.M. Varela, J. Dapena, C. de la Horra, N. Respaldiza, E. de la Santa, J. Medrano, M. Álvarez y E. Calderón

Hosp. Virgen del Rocío. Sevilla.

Introducción: En los últimos años se ha demostrado la existencia de portadores asintomáticos de *Pneumocystis carinii* entre pacientes inmunocompetentes con enfermedades pulmonares crónicas sin conocerse aún el significado clínico de esta situación.

Objetivos: Determinar la frecuencia de portadores de *P. carinii* en sujetos con fibrosis quística (FQ), una enfermedad donde el problema más grave son las infecciones broncopulmonares.

Método: Se realizó un estudio epidemiológico prospectivo en pacientes con FQ atendidos en una unidad especializada en el diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad. A todos se les realizó una encuesta epidemiológica y se obtuvieron muestras de sangre para hemograma y pruebas serológicas. Así mismo se realizó una Rx de tórax y se obtuvieron muestras de esputo y lavado orofaríngeo (LOF). La identificación de *P. carinii* se realizó mediante nested-PCR. Los pacientes no estaban recibiendo tratamiento antimicrobiano en el momento del estudio.

Resultados: Se estudiaron 36 muestras de esputo y 6 de LOF de 42 pacientes (25 hembras y 17 varones) con FQ incluidos 4 parejas de hermanos. La edad osciló entre 6 y 32 años y la media de linfocitos totales de 2421 ± 920 cel/mm³ (límites: 630-5600). Ninguno presentó positividad para anti-VIH. Se identificó *P. carinii* en 5 pacientes (11,9%) y los resultados en las parejas de hermanos fueron concordantes en todos los casos.

Conclusiones: Estos resultados demuestran que el tracto respiratorio de los pacientes con FQ puede estar colonizado

por *P. carinii* observándose resultados concordantes entre los grupos de hermanos. Esto sugiere la posibilidad una fuente de contagio común. Son necesarios estudios de seguimiento para conocer el papel de esta infección subclínica en la historia natural de la FQ.

(Eurocarinii Project QLK2-CT-2000-01369).

Sesión 6 Epidemiología de las enfermedades infecciosas

112

COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE PCR Y RFLP PARA EL GENOTIPADO DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B

S. Rodríguez Nóvoa, A. Aguilera Guirao, D. Gutiérrez y B.J. Regueiro García

Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela.

Objetivos: El VHB se ha clasificado en 6 genotipos diferentes en base a sus homologías de secuencias. Secuenciar todo el genoma del virus es largo y laborioso por lo que se han descrito diversos métodos para realizar el genotipado. Pretendemos comparar dos de estos métodos, RFLP (restriction fragment length polymorphism) y PCR, que se basan en el análisis de pequeñas secuencias en donde radican diferencias que permiten distinguir los genotipos.

Material y métodos: Se han estudiado muestras de suero de pacientes con hepatitis crónica por VHB.

Se realiza la extracción del ADN por un método automático (Extractor, Organon Technica) y el ADN extraído se ensaya por los dos métodos de genotipado.

En el sistema de PCR se lleva a cabo una primera amplificación con los primers P1, S1-2 según las condiciones descritas por los autores, seguida de una segunda PCR que emplea primers tipo-específicos para la detección de los seis genotipos. En el sistema de RFLP se amplifica una región de 479 pb con primers P1 y P2 y se somete a digestión con los enzimas de restricción Ava2 y MboI para obtener patrones de RFLP que se visualizan en un gel de agarosa NuSieve al 3%.

Resultados: En las muestras comparadas se ha encontrado un 81% de concordancias y un 29% de discordancias (Coeficiente de concordancia de Kendall 0,625, $p < 0,001$).

113

RELACIÓN DEL GENOTIPO CON LA APARICIÓN DE MUTACIONES EN LA REGIÓN YMDD DEL GEN DE LA POLIMERASA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B

S. Rodríguez Nóvoa, A. Aguilera Guirao, D. Gutiérrez, A. Vela, T. Verdura, M.L. Abad y B.J. Regueiro García

Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela.

Objetivos: Relación del genotipo del virus de la hepatitis B (VHB) con la aparición de resistencias al tratamiento con lamivudina.

Material y métodos: Se han analizado 20 sueros de pacientes con hepatitis B crónica que se encuentran a tratamiento con lamivudina. El genotipado del virus se ha realizado por RFLP (restriction fragment length polymorphism) y la detección de resistencias por secuenciación de parte del gen de la polimerasa que incluye la región YMDD en un secuenciador automático (Beckman 2000).

Resultados: Se han detectado virus mutantes para la región YMDD en cinco de las muestras. Los cinco mutantes presentan las mutaciones L528M y M552V, el resto presentan el genotipo salvaje en esta región. Los virus con mutaciones que confieren resistencia al tratamiento con lamivudina presentan los siguientes genotipos: dos pertenecen al genotipo C; dos al genotipo A y uno al genotipo F. El resto de los genotipos salvajes para la región YMDD son: 12 genotipo D y 3 genotipo A.

Conclusiones: Se observa una menor aparición de resistencias en los genotipos D que en el resto de los genotipos A, C y F.

114

ALTA PREVALENCIA DEL GENOTIPO D DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B EN EL NOROESTE DE ESPAÑA

S. Rodríguez Nóvoa, A. Aguilera Guirao, M. Treviño, E. Varela, M.J. Fungueiro, D. Gutiérrez y B.J. Regueiro García
Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela.

Objetivos: El VHB ha sido clasificado en seis genotipos diferentes (A-F) en función de su homología de secuencias. Existe una clara distribución geográfica de los distintos genotipos en todo el mundo. El genotipado del virus de la hepatitis B posee un gran interés debido a que todavía no está clara la relación genotipo-patogenicidad existiendo estudios que relacionan un genotipo concreto con distintos grados de lesión hepática.

Material y métodos: Se estudiaron 40 muestras de sueros de pacientes con hepatitis B crónica, de los cuales 20 pacientes eran anti-HBe positivos y 20 HBeAg positivos. Para el genotipado del virus hemos empleado un método de RFLP (restriction fragment length polymorphism) basado en la amplificación de parte de la región pre-S del VHB y posterior digestión del producto con los enzimas de restricción Ava2 y MboI. Los fragmentos resultantes se visualizaron en un gel de agarosa al 3% teñido con bromuro de etidio y se compararon con los patrones de RFLP descritos para el genotipado del virus por esta técnica.

Resultados: De los 20 pacientes HBeAg negativos el 100% estaban infectados por el genotipo D. Dentro del genotipo D obtuvimos tres patrones diferentes al cortar con Ava2 y MboI: 16 casos presentaron el patrón D2 (85%); 2 casos el patrón D1 (10%) y un caso el patrón D-del (5%). El 70% de pacientes HBeAg positivos presentaron el genotipo D, el 20% el genotipo A, el 5% el C y el 5% el genotipo F.

Conclusiones: Se observó, por lo tanto, mayor variabilidad genotípica del VHB en los pacientes que presentan HBeAg positivo.

115

ESTUDIO SEROLÓGICO DEL VHB, VHC, VIH Y SÍFILIS EN POBLACIÓN INMIGRANTE DE LA PROVINCIA DE VALENCIA

M. Romero, D. Gómez, M.J. Giménez, A. Molina, J. Córdoba y M. Gobernado
Servicio de Microbiología. Hospital Universitario La Fe. Valencia.

Objetivos: Determinar la prevalencia del VHB, VHC, VIH y sífilis, en un grupo de población inmigrante de la provincia de Valencia.

Población y métodos. Se estudió un grupo de 2.536 personas procedentes de 55 países. Se determinaron en suero los marcadores para el VHB (HBsAg, HBsAc y HBcAc), los anticuerpos frente al VHC y los anticuerpos reagínicos (RPR). En 920 de ellos se determinaron, además, los anticuerpos frente al VIH. En los casos de HBsAg positivo se estudiaron, también,

el HBeAg y el HBeAc, los anticuerpos anticore tipo IgM, y los anticuerpos frente al virus de la hepatitis delta (HDAc). En los casos de VHCAc y VIH positivos se realizaron pruebas confirmatorias, y estudio del ARN y genotipo viral para el VHC. La prueba de FTA-ABS se realizó cuando el RPR fue positivo.

Resultados. Un total de 39 personas (1,54% de la población) presentaban HBsAg positivo, de ellos 35 (89,74%) presentaban HBeAc positivo y HBeAg negativo, y 4 (10,26%) HBeAc negativo y HBeAg positivo. Sólo uno de ellos presentaba HBcAc indeterminado y se detectó coinfección con el VHD en otro caso. Los HBcAc fueron positivos en 293 personas (11,55%) y los HBsAc en 324 (12,78%). En el VHC se hallaron 27 personas (1,06% de la población) que presentaban anticuerpos frente al mismo. El ARN fue positivo en 18 de ellas (66,67%) y los genotipos encontrados con mayor frecuencia fueron el 3a en ocho ocasiones (44,44%) y el 1b en otras seis (33,33%). En cuanto al RPR fue positivo en 70 casos (2,76% de la población), siendo positivo el FTA-ABS en 53 de ellos (75,71%) y negativo en 17 (24,29%). El VIH fue positivo sólo en dos de los casos estudiados.

116

CARGA FAMILIAR DE DIABETES TIPO II Y HEPATITIS C EN PACIENTES DIABÉTICOS DE LA ZONA NORTE DE HUELVA

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

Objetivo: Se ha descrito la participación del virus C de la hepatitis en la aparición de casos nuevos de diabetes mellitus (DM II). Analizamos la prevalencia de hepatitis C en una población de diabéticos según la presencia o ausencia de carga familiar de (DM II).

Pacientes y métodos: Estudio de pacientes con (DMII), seleccionados aleatoriamente de la población de (DM II) de la Zona Norte de Huelva. Protocolo estandarizado recogiendo: edad, carga familiar de (DM II) (si = padre o madre o hermano/a o 2 o más tíos/as con DM II; no = ausencia de todos ellos), marcadores de hepatitis C (MEIA IgG, confirmatorio Inmunoblot, PCR) y hepatitis B (Ag HBs, Ac HBc).

Estadística: prueba exacta de Fisher, odds ratio, IC 95%.

Resultados: se estudiaron 330 pacientes con (DM II) (E = 68,6, IC 95% 67,6 – 69,6), detectando 12 casos de hepatitis C (3,6%). En el grupo de (DM II) con carga familiar de (DM II) (n = 178) detectamos 3 casos de hepatitis C (2%), frente a 9 casos (5,8%) en el grupo sin carga familiar (n = 152) (odds ratio = 0,28, IC 95% 0,1 – 0,97, p < 0,05). Sin embargo, la distribución de casos de Ac HBc (+) sí fue homogénea entre los dos grupos (24% vs 23%, odds ratio = 1,1, IC 95% 0,7 – 1,9, NS). Para el caso de Ag HBs (+) [6 Ag HBs (+) /Ac HBc (+)], tampoco hubo diferencias significativas (2% vs 1%, odds ratio = 1,8, IC 95% 0,3 – 9,7, NS).

Conclusiones: los resultados demuestran que los pacientes diabéticos con hepatitis C, como grupo, presentan un patrón de carga familiar de diabetes inferior a aquellos sin hepatitis C. De ello se sugiere una posible participación de otros factores en la aparición de diabetes en los pacientes con infección crónica por el virus C.

117

INFECCIÓN POR VIH-2 EN ESPAÑA

C. Toro, B. Rodés, A. Machuca, A. Aguilera, E. Poveda, C. Tuset, R. Ortiz de Lejarazu, J.M. Eirós, E. Caballero, J. del Romero, C. del Romero y grupo Español de VIH-2
Hospital Carlos III. Instituto de Salud Carlos III. Madrid.

Objetivo: Describir las principales características de individuos infectados por VIH-2 en España hasta noviembre del

2001, examinando los casos descritos en la Base de Datos del Registro Nacional de VIH-2.

Materiales y métodos: El Grupo Español de Estudio de VIH-2 se fundó en 1990 e incluye participantes de más de 30 centros de diagnóstico distribuidos por toda la geografía española. Para determinar las nuevas infecciones por VIH-2 se utilizaron métodos serológicos y genéticos.

Resultados: Se han descrito 101 casos de infección por VIH-2. Setenta y cinco (74,2%) de ellos eran hombres. Todos eran adultos a excepción de un niño que contrajo la infección por transmisión vertical. La mayoría de los individuos eran de países africanos (n=72) y nativos portugueses. El resto fueron nativos españoles que habían viajado o habían mantenido relaciones sexuales con personas de áreas endémicas. La vía de infección fue a través de contacto heterosexual en la mayoría de los casos, aunque 10 eran hombres homo/bisexuales y 3 habían sido usuarios de drogas por vía parenteral. Sólo 18 habían desarrollado SIDA y 8 han fallecido; el resto eran asintomáticos. En 10 individuos, se confirmó una co-infección por VIH-1 mediante métodos serológicos y PCR. Se han analizado subtipos de VIH-2 en 28 pacientes: 23 subtipos A (españoles y africanos) y 5 subtipos B. Todos los pacientes que procedían de Guinea Ecuatorial se infectaron con subtipos B, así como 2 españoles que habían permanecido en África Occidental durante largos períodos. No se ha encontrado ningún incremento en el número de casos descritos en el tiempo. Los individuos VIH-2 han sido diagnosticados principalmente en áreas urbanas: Madrid (n = 31), Barcelona (n = 30) y San Sebastián (n = 8).

Conclusiones: La infección por VIH-2 está circulando actualmente en España, aunque con baja prevalencia y sin un incremento significativo en el tiempo. Los principales subtipos, el A y el B, fueron encontrados en españoles y africanos. Sin embargo, en pacientes de Guinea Ecuatorial el subtipo mayoritario fue el subtipo B.

118

PREVALENCIA DE INFECCIÓN POR VIH-1/2, VHC, Y HTLV-I/II EN PROSTITUTAS INMIGRANTES DE LA COMUNIDAD DE MADRID

M. Gutiérrez, M. Martínez-Padial, *M. Del Alamo, D. Cuevas y M. Baquero

Servicio de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.

**Médicos del Mundo. Madrid.*

Objetivos: Estudio de la prevalencia de infección por VIH-1/2, VHB, VHC y HTLV-I/II en prostitutas inmigrantes en Madrid.

Material y métodos: Las muestras fueron tomadas por Médicos del Mundo entre el primero y segundo mes de su llegada a España y enviadas para su estudio a nuestro laboratorio. El estudio fue realizado en 391 prostitutas en un período comprendido entre enero de 1998 y noviembre de 2001. Un 92% (360) provenientes de países del África subsahariana: Sierra Leona (185), Nigeria (123), Liberia (30), Sudan (19) y un 8% (31) de países de América Latina, la mayoría de ellas (28) de Ecuador.

La detección de anticuerpos se realizó mediante pruebas de screening: EIAs (Abbott, Ortho) y pruebas confirmatorias: LIAs (RIBA, Inno-LIA, Pepti-LAV) y Western blot.

Resultados: Diecinueve (4,9%) estaban infectadas por el VIH-1: (8/185 de Sierra Leona, 6/123 de Nigeria, 4/30 de Liberia y 1/28 de Ecuador) 14 (3,6%) mostraron marcadores de infección activa, aguda o crónica para el VHB (HbsAg positivo) 1/154 por el HTLV-I/II y ninguna estaba infectada por el VHC. Un 38% tenían marcadores serológicos de infección pasada por el VHB.

Discusión: En nuestro estudio un 4,9% estaban infectadas por el VIH-1 siendo Liberia el país con mayor proporción de casos (13%) A pesar de la alta prevalencia de HVC en los países de origen, no hubo ningún caso de infección por este virus.

119

INFECCIÓN POR HTLV-I EN ESPAÑA

C. Toro, B. Rodés, A. Machuca, A. Aguilera, E. Poveda, C. Tuset, R. Ortiz de Lejarazu, JM. Eirós, E. Caballero, R. Benito, E. Calderón, C. Rodríguez, J. del Romero, C. del Romero y Grupo Español de HTLV-I/II.

Servicio de Infecciosas. Laboratorio de Biología Molecular. Hospital Carlos III. Instituto de Salud Carlos III.

Objetivo: Describir las principales características clínicas y epidemiológicas de los individuos con infección por HTLV-I en España.

Materiales y métodos: En 1991 se fundó el Grupo Español de Estudio de HTLV en el que participan 18 centros de diagnóstico distribuidos por toda España. Para el screening y confirmación de la infección por HTLV-I se han realizado mediante técnicas serológicas y genéticas.

Resultados: Hasta noviembre de 2001, se han descrito 51 casos de infección por HTLV-I. de los cuales 28 (54,9%) eran varones (rango 20-78).

No se ha registrado ningún caso pediátrico. 21 pacientes eran inmigrantes mientras que 28 eran nativos que habían viajado a zonas endémicas o habían mantenido relaciones sexuales con oriundos de ellas. La principal vía de transmisión de la infección fue el contacto heterosexual (n = 25), UDI's (n = 8), transfusiones (n = 4), trasplantes (n = 3), y desconocida (n = 11). Se identificaron 6 casos que procedían de donaciones de bancos de sangre, después de estudiar más de 500.000 donaciones. Se encontraron síntomas clínicos potencialmente asociados con HTLV-I en 16 individuos: 10 tenían paraparesia espástica tropical (TSP) y 4 leucemia de células T en adultos (ATL). Todos los pacientes infectados mediante trasplante desarrollaron TSP en un intervalo de 2 años. Dos individuos con TSP recibieron tratamiento con interferón y AZT+3TC, respectivamente, con mejoría parcial en uno de ellos en el que la TSP era poco evolucionada. Se registraron 7 muertes: 3 con ATL y otras 4 con SIDA.

Conclusiones: La infección por HTLV-I es poco frecuente en España. Los casos de infección afectan principalmente a inmigrantes de áreas endémicas o sujetos que han tenido relaciones sexuales con oriundos de ellas. Aunque el screening en bancos de sangre no parece justificado, la infección por HTLV debería ser descartada entre los donantes de órganos.

120

SEROPREVALENCIA FRENTE A HSV-2 EN ESPAÑA

F. de Ory, I. Pachón* y J.M. Echevarría

**Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III, Madrid.*

Objetivos: Estudiar la seroprevalencia frente al virus herpes simplex (HSV) tipo 2 en población adulta en España.

Material y métodos: El estudio se realizó sobre una muestra representativa de la población española, a excepción de Cataluña, de 13 a 40 años (2.429 muestras, 1.650 de mujeres y 769 de varones). Las muestras se han ensayado por ELISA indirecto, mediante un ensayo que emplea la glicoproteína G (gG) del HSV2 como antígeno (MRL, EEUU). Todas las muestras con resultado equivoco o positivo se han ensayado mediante un método de ELISA indirecto, que emplea gG de HSV2 como antígeno, en un laboratorio de referencia (Public Health Laboratory Service, Londres, Reino Unido).

Resultados: Se ha registrado un total de 57 muestras con resultado positivo, 30 con resultado equivoco, y 2.342 con resultado negativo. Las muestras con resultado equivoco se han excluido para el cálculo de la seroprevalencia. La seroprevalencia global ha sido del 2,39%, aumentando significativamente con la edad. En mujeres ha sido del 3,02%, y en varones del 1,05%, siendo esta diferencia significativa (p < 0,05). Por grupo de edad en mujeres ha variado desde el 0% en 13-14 años,

al 12,5% en 15-24 años, 5,14% en 25-34 años y 4,52% entre 35-39 años. En los varones los porcentajes han sido respectivamente 0%, 0,55%, 2,13% y 1,41%. En mujeres se ha obtenido en función de la edad un test de tendencia lineal significativo (χ^2 12,45, $p < 0,05$). Tomando como referencia el grupo de 15-24 años, el mayor riesgo de infección lo presentan las mujeres de 25-34 años (odds ratio = 4,3). El riesgo de infección disminuye en el grupo de 35-39 años (odds ratio = 3,7).

Conclusiones: La seroprevalencia frente al HSV2 obtenida en el presente estudio es más baja que la obtenida en otros países de nuestro entorno, pero similar a la previamente documentada en nuestro país, tanto para el estado español, como para la Comunidad de Madrid.

121

EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA Y MOLECULAR DE *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* Y SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS

M.D. del Toro, E. Ramírez de Arellano, J. Rodríguez-Baño, M. Beltrán, L. Martínez Martínez A. Pascual, M.A. Muniain y E. Perea

Hospital Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Conocer la incidencia, epidemiología clínica y molecular, y patrones de sensibilidad de *S. maltophilia* (Sm), en el Hosp. U. V. Macarena de Sevilla, en un periodo de 37 meses.

Métodos: Identificación de los aislamientos de Sm entre enero-98 y enero-01 mediante sistemas comerciales (Walk Away, Vitek 2, API NE). Estudio molecular de las cepas de Sm mediante PFGE. Estudio de la sensibilidad mediante microdilución en caldo (normas NCCLS).

Resultados: Se detectaron 129 aislamientos de *S. maltophilia* en 87 pacientes, 70 estaban hospitalizados. La incidencia media en los pacientes hospitalizados fue 4,8/10.000 ingresos, con dos picos de incidencia que coincidieron en el tiempo con agrupamientos de casos en la UCI. 79 aislamientos de Sm estuvieron disponibles para el estudio molecular y de sensibilidad antimicrobiana. El estudio molecular mediante PFGE mostró una gran variabilidad genética, detectándose 60 clones distintos. Hubo relación clonal entre dos aislamientos separados en el tiempo de 2 pacientes de UCI, y entre dos aislamientos de aspirados bronquiales de dos pacientes a los que se había realizado una fibrobroncoscopia con la misma instrumentación. Los aislamientos obtenidos de un mismo paciente estuvieron clonalmente relacionados. Los antimicrobianos a los que > 50% de las cepas eran sensibles in vitro (puntos de corte NCCLS) fueron: doxiciclina (100%), cotrimoxazol (96%), moxifloxacino (92%), ticarcilina-clavulánico (65%), ácido nalidíxico (66%), norfloxacino (60%), ceftazidima (57%), y ciprofloxacina (52%).

Conclusiones: La incidencia de Sm en nuestro hospital es baja, con pequeñas agrupaciones de casos. Existe una gran diversidad genética en Sm, y su transmisión pudiera producirse por múltiples adquisiciones independientes desde las fuentes ambientales. Cotrimoxazol continúa siendo uno de los fármacos más activos frente a Sm, así como doxiciclina. Las nuevas quinolonas como moxifloxacino son fármacos que ofrecen buenas expectativas de tratamiento.

122

IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS EN SECUENCIAS REPETIDAS DE NUCLEÓTIDOS EN *YERSINIA ENTEROCOLITICA*

I. de Benito*, M.E. Cano*, J. Agüero**, y J.M. García Lobo**

Microbiología. H.U. Marqués de Valdecilla*. Dpto. Biología Molecular. Univ. Cantabria**.

La existencia de secuencias de nucleótidos repetidas en células eucariotas y procariotas es un hecho conocido. De éstas las denominadas SSR (short sequences repeats) o VNTR (va-

riable number of tandem repeats) se han mostrado de utilidad en el genotipado de microorganismos patógenos. En una cepa clínica (Y-56) de *Y. enterocolitica* hemos encontrado un hexanucleótido CCAGCA que se repite en tandem 15 veces, en el extremo 5' del gen que codifica para la virginiamicina acetiltransferasa (*vataA*).

Objetivo: Comprobar el nivel de distribución del hexanucleótido en cepas de *Y. enterocolitica* obtenidas de muestras clínicas, así como el número de repeticiones y su estabilidad en el tiempo.

Material y métodos: A partir de la cepa Y-56 se diseñaron dos oligonucleótidos para amplificar, por PCR la región cromosómica donde se localiza la secuencia repetida. Se estudiaron 57 cepas, estableciéndose distintos patrones según el tamaño del amplicón. Para determinar con exactitud el número de repeticiones, distintos productos de PCR representativos de los tamaños fueron purificados y secuenciados.

Resultados: En todas las cepa analizadas encontramos la secuencia CCAGCA repetida, y comprobamos un polimorfismo en dicha región debido a diferencias de peso molecular en el fragmento amplificado. El estudio de la secuencia de los distintos patrones, proporcionó los siguientes resultados en cuanto al número de copias obtenido del hexanucleótido (entre paréntesis el número de cepas): 4 (5); 5 (2); 7 (9); 8 (9); 9 (14); 11 (6); 13 (16); y 14 (6). No se observaron diferencias en el número de copias en una misma cepa replicadas a lo largo de un periodo de tres meses.

Conclusiones: Hemos comprobado un polimorfismo genético en *Y. enterocolitica* debido a la existencia de una región, presente en todas las cepas, que contiene un hexanucleótido repetido en distinto número de copias. La aparente estabilidad de dichas repeticiones ofrece la posibilidad de su aplicación en el tipado molecular de dicho patógeno.

123

HETEROGENEIDAD DE *ESCHERICHIA COLI* CON β -LACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO EN EL HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL (1989-2000)

M.C. Varela, T.M. Coque, A. Oliver, M.D. Hernández, J.C. Pérez-Díaz, F. Baquero y R. Cantón

Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Los aislados con β -lactamasas plasmídicas de espectro extendido (BLEE) se han asociado generalmente a brotes epidémicos y, en menor medida, a casos esporádicos de uno o dos pacientes.

Objetivo: Determinar la prevalencia, el patrón epidemiológico y la identidad de las BLEE en todos los aislados de *E. coli* productores de estas enzimas recogidos en nuestro hospital durante un periodo de 12 años (1989-2000).

Métodos: Se analizó un único aislado por paciente o más de uno si los aislados con BLEE tenían diferentes valores de punto isoelectrico (pI). Para inferir la presencia de estas enzimas se utilizó el análisis del perfil de sensibilidad (dilución en agar, NCCLS) y la sinergia de doble difusión con disco. La caracterización de las BLEE se realizó mediante el pI y PCR con cebadores específicos para los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}. El estudio de clonalidad se realizó utilizando la electroforesis en campo pulsante (PFGE).

Resultados: Durante el periodo de estudio, solamente un bajo porcentaje (< 0,5%) de los aislados de *E. coli* fue productor de BLEE (104 aislados de 67 pacientes). El 21% de los pacientes procedía de áreas quirúrgicas, el 15% de UCI, el 37% de áreas médicas y el 27% correspondió a pacientes extrahospitalarios. Los aislados se obtuvieron en un 51% de orina, 12% de muestras respiratorias, 10% de muestras fecales, 9% de sangre, 4% de heridas, 4% de catéteres y un 9% de otro tipo de muestras. En estos aislados se reconocieron 57 clones diferentes: 51 clones se identificaron en 51 pacientes distintos, 2 clones procedían de 2 pacientes cada uno y 4

clones procedían de 3 pacientes cada uno. Las BLEE identificadas fueron de tipo SHV y pl 7,6 y 8,2 (20%), derivadas de TEM y pl 5,9 (30%) y pertenecientes a la familia CTX-M y pl 8,1 (50%).

Conclusiones: No se detectaron epidemias importantes por aislados de *E. coli* con BLEE en nuestro hospital, observándose una gran heterogeneidad clonal. Las BLEE de tipo CTX-M, identificadas por vez primera en nuestro hospital en el año 1991 fueron las de mayor prevalencia.

124

EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA DE LA INFECCIÓN/COLONIZACIÓN POR ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO

L. Navarro, J. Rodríguez Baño, L. Martínez Martínez, A. Pascual, L. Romero, E.J. Perea y M.A. Muniain
Hosp. Univ. Virgen Macarena. Sevilla.

Objetivos: Describir la epidemiología clínica de la infección/colonización por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (EPBLEE) en nuestra área sanitaria.

Métodos: Estudio prospectivo de todos los pacientes en que se aisló una EPBLEE entre enero-00 y octubre-01 en el área dependiente del laboratorio de Microbiología de nuestro centro.

Resultados: Se incluyeron 64 casos, 3 de *Klebsiella pneumoniae* (5%) y 61 de *Escherichia coli* (95%). El 62% eran pacientes hospitalizados; de ellos, 45% en el Hosp. Univ. V. Macarena (1.000 camas, agudos) y 55% en el Hosp. San Lázaro (150 camas, media y larga estancia). El 38% se aisló de pacientes ambulatorios (29% de ellos de consultas hospitalarias externas y 71% de centros de atención primaria). El 15% de los casos extrahospitalarios habían estado ingresados en el año previo. Entre los pacientes hospitalizados, el 83% estaba en un servicio médico y el 6% en UCI. La mediana de edad fue de 71 años. El 53% eran hombres. Sólo 2 casos fueron pediátricos. El 95% tenía alguna enfermedad crónica de base, siendo las más frecuentes la neurológica y la diabetes. El 41% tenían sonda urinaria (67% de hospitalizados vs 25% de ambulatorios, $p < 0,001$), el 31% catéter venoso y el 78% habían recibido antibioterapia en las dos semanas previas (90% de casos hospitalarios vs 70% de ambulatorios, $p = 0,07$). El microorganismo se aisló de urocultivo en el 40% de los hospitalizados y en todos los ambulatorios, y de exudado de herida/úlceras en el 40% de los hospitalizados. Solo hubo 2 bacteriemias (5%).

Conclusiones: la gran mayoría de aislamientos de EPBLEE fueron *E. coli*. Más de 2/3 de los casos fueron extrahospitalarios, aislándose estos en urocultivos. Los casos hospitalarios se produjeron con mayor frecuencia en un hospital pequeño de pacientes de media y larga estancia. La mayoría de los pacientes habían recibido antibioterapia en las dos semanas previas.

125

PROYECTO GEIH-BLEE 2000. AISLAMIENTO DE *E. COLI* (Eco) Y *K. PNEUMONIAE* (Kpn) PRODUCTORES DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) EN HOSPITALES ESPAÑOLES

J.R. Hernández, A. Pascual, L. Martínez Martínez y GEIH.
Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria (GEIH).
HUV Macarena. Sevilla.

Objetivos: Descripción de los aspectos demográficos de un estudio prospectivo multicéntrico nacional de Eco y Kpn BLEE(+), realizado durante el período marzo - junio de 2000.

Material y métodos: En el estudio participaron 40 hospitales, que recogieron 352 cepas de Eco y Kpn con fenotipos compatibles con la producción de BLEE. Se rellenó para cada aislamiento un formulario de datos clínicos y demográficos. Las cepas y los formularios se enviaron a un centro coordinador donde se comprobó la identificación (API20E) y la sensibilidad (microdilución, normas NCCLS).

Resultados: De los 40 hospitales participantes, 10 tienen más de 1000 camas, 20 tienen entre 500 y 1000 y 10 tienen menos de 500. De las 352 cepas enviadas, 240 producían BLEE, incluyendo 170 Eco y 70 Kpn. Se aislaron cepas BLEE (+) en 37 hospitales. El porcentaje de Eco y Kpn BLEE (+) respecto del total de cepas aisladas en cada centro, osciló entre 0% y 2.4% para Eco y entre 0% y 16.7% para Kpn. El 46% de los Eco y el 66% de las Kpn BLEE (+) fueron aislados en hombres. El 51% de las muestras en las que se aisló Eco BLEE (+) fueron extrahospitalarias. El 93% de las muestras con Kpn BLEE (+) fueron intrahospitalarias. Los servicios de los que provenían las muestras con Eco y Kpn BLEE (+) fueron respectivamente: Medicina (39,5% y 6%), Cirugía (27% y 12%), UCI (15% y 34%), Pediatría (7,5% y 35%) y otros (11% y 13%). Los Eco y las Kpn se aislaron de: orinas (66% y 43%), hemocultivos (11% y 16%), heridas (12% y 10%), broncoaspirados (3% y 13%), catéteres (1% y 10%), otras muestras (6% y 8%). Los rangos y las medianas de las edades de los pacientes en los que se aislaron Eco y Kpn BLEE(+) fueron 0-93 y 0-83, y 11 y 58, respectivamente.

Conclusiones: Se han identificado cepas de Eco o Kpn BLEE (+) en el 92,5% de los hospitales participantes. En términos absolutos, Eco BLEE (+) es más frecuente que Kpn BLEE (+). El 50% de Eco productores de BLEE son de origen extrahospitalario.

126

EPIDEMIOLOGÍA DE *ACHROMOBACTER* spp. EN PACIENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA (FQ) EN EL HOSPITAL RAMÓN Y CAJAL (1993-2001)

M.D. Hernández, T.M. Coque, L. Maiz, J.C. Pérez-Díaz, MC. Varela, F. Baquero y R. Cantón
Microbiología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Objetivos: 1) Estudiar la frecuencia de colonización/infección por especies del género *Achromobacter*, en pacientes con FQ atendidos en el Hospital Ramón y Cajal, Madrid, desde junio de 1993 hasta junio de 2001. 2) Analizar su persistencia y/o variabilidad en cada paciente. 3) Detectar posibles casos de transmisión cruzada entre pacientes.

Métodos: Los aislados se identificaron a nivel de subespecie usando el sistema comercial api 20 NE. El estudio molecular se realizó con la técnica de electroforesis en campo pulsante (PFGE, CHEF-DRII) y *XbaI* (30 U) como enzima de restricción.

Resultados: En 13 de 137 pacientes (incidencia acumulada = 9,5%), se observó al menos un aislamiento de *Achromobacter* spp. En 7 de estos 13 pacientes, la especie aislada fue *A. xylosoxidans* subsp. *xylosoxidans* (AXSX). De estos, 5 tuvieron episodios repetidos, mientras que 2 pacientes presentaron un aislamiento único. *A. xylosoxidans* subsp. *denitrificans* (AXSD) se detectó en 5 pacientes, todos ellos con un episodio simple. El paciente restante, sufrió episodios repetidos con ambas subespecies. La caracterización molecular de los aislados estudiados ($n = 47$) evidenció la presencia de 15 clones (incidencia clonal acumulada = 11%). De los 7 pacientes con AXSX, 2 portaban la misma cepa mientras que 5 presentaron clones diferentes entre sí. En el grupo con AXSD, cada paciente presentó un pulsotipo diferente. En el paciente con ambas subespecies, se observaron 3 pulsotipos de AXSD y uno de AXSX. La colonización por AXSX cumplió el criterio de persistencia (> 6 meses) en 5 de los 6 pacientes con aislamientos repetidos. Por el contrario, en el grupo con AXSD los aislamientos

siempre se asociaron a único episodio excepto en un paciente en el que se observó una colonización de más de 6 meses pero por clones diferentes. La posible transmisión cruzada sólo se objetivó en dos pacientes.

Conclusiones: El aislamiento de AXSX en los pacientes con FQ puede indicar su persistencia a lo largo del tiempo en comparación con el aislamiento de AXSD, normalmente asociado a episodios únicos.

127

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE CEPAS DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* AISLADAS DE CASOS CLÍNICOS Y ALIMENTOS

C. Salcedo, B. Alcalá, L. De la Fuente, L. Arreaza y J.A. Vázquez
Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.
Majadahonda. Madrid.

Electroforesis en campo pulsado (PFGE), resulta uno de los métodos moleculares de tipado con mayor poder de discriminación en cepas de *Listeria monocytogenes*. Nuestro laboratorio cuenta con una colección de unas 800 cepas, recibidas a lo largo de los últimos 10 años de las cuales alrededor de un 20% procede de casos de listeriosis humana y el resto de alimentos.

En este trabajo se planteó la caracterización molecular de cepas de *L. monocytogenes* tanto de origen clínico como aisladas de alimentos mediante la aplicación del PFGE, con el objetivo de identificar qué cepas están causando listeriosis en nuestro medio así como analizar su diversidad y relación con cepas aisladas en alimentos. Se seleccionaron 190 cepas, 117 de origen clínico y 73 de alimentos no relacionadas epidemiológicamente, pertenecientes a los serotipos más frecuentemente implicados en casos de listeriosis, (serotipos 4b, 1/2a y 1/2b). En el análisis de los distintos patrones de restricción obtenidos se identificaron 52 pulsotipos (PTs) distintos, de los cuales 32 estuvieron representados por una única cepa. En las cepas de serotipo 4b de origen clínico, dos pulsotipos muy relacionados entre sí fueron los más frecuentes agrupando 44 de las 87 cepas clínicas de serotipo 4b analizadas. Estos PTs también fueron encontrados en cepas aisladas de alimentos. Sin embargo el PT 11, otro perfil que resultó frecuente en las cepas de origen clínico, no se identificó en ninguna cepa aislada de alimentos.

Conclusiones: 1) Las cepas clínicas presentaron una importante diversidad genética, sin embargo un alto porcentaje de las mismas pertenecen a un número reducido de clones muy relacionados genéticamente. 2) Los pulsotipos mayoritarios en las cepas clínicas también fueron encontrados en cepas de alimentos lo cual indica la amplia distribución de los mismos. 3) El pulsotipo 11 encontrado exclusivamente en cepas clínicas podría corresponder a un clon de alta virulencia.

128

NORWALK-LIKE VIRUS: DETECCIÓN DE CASOS ESPORÁDICOS Y ESTUDIO DE BROTES DE GASTROENTERITIS AGUDA EN GIPUZKOA

D. Vicente, M. Montes, M. Gomariz, J. Artieda y G. Cilla
Servicio de Microbiología, Hospital Donostia, San Sebastián.

Introducción: Norwalk-like virus (NLV) forma un género dentro de la familia Caliciviridae, y es causa frecuente de gastroenteritis aguda (GEA) del adulto en los países desarrollados. El objetivo de este trabajo fue estimar la incidencia de este virus en la población de Gipuzkoa.

Método: Durante 6 meses (noviembre 2000-mayo 2001) se estudiaron a 50 sujetos involucrados en nueve brotes (niños y adultos) y a 301 sujetos adultos afectados de episodios aisla-

dos de GEA. Los brotes afectaron a 573 personas (4 colegios, 4 residencias de ancianos y una fábrica de ascensores). De los casos esporádicos, 129 fueron obtenidos en el hospital, procediendo del medio ambulatorio el resto. Para la investigación de NLV se extrajo el RNA con silica a partir de las heces y se amplificó un fragmento del DNA complementario de 133 bp con los iniciadores descritos por Ando y col. Además se investigó la presencia de enteropatógenos bacterianos (coprocultivo), Rotavirus y Astrovirus (EIA). Se secuenciaron los amplicones obtenidos de muestras de brotes (ABI 300 Genet Analyzer).

Resultados: Se detectó NLV en 4/9 (44,4%) de los brotes investigados. Uno de los brotes sucedió en una residencia de ancianos afectando al 63% de los residentes, mientras que los otros tres brotes ocurrieron en tres colegios con tasas de ataque del 14%, 25% y 26% respectivamente. El vómito fue el síntoma más frecuente que apareció en cerca del 80% de los afectados y en el 100% de los alumnos de un colegio. En los brotes atribuidos a NLV se detectó el virus en el 50% de los pacientes investigados (17/34). Entre los esporádicos se detectó NLV en 6 casos (2%), cuatro en pacientes ambulantes y dos en pacientes hospitalizados. El análisis de las secuencias mostró similitud > 93% entre cepas de un mismo brote y discriminó entre cepas de brotes diferentes.

Conclusiones: NLV fue la causa más frecuente de brotes de GEA en Gipuzkoa tanto en población adulta como pediátrica y su investigación debe ser realizada en todos ellos. Por el contrario fue causa infrecuente de GEA del adulto de aparición esporádica.

129

COMPORTAMIENTO DE LA ENFERMEDAD MENINGOCÓCICA EN CATALUÑA DURANTE EL PERÍODO 1990 A 1997

G. Carmona, N. Cardenosa, A. Orcau, H. Pañella, M. Company, M. Alsedà, N. Escatllar, M. Oviedo, G. Navarro y A. Domínguez
Departamento de Sanidad y Seguridad Social. Barcelona.

Objetivos: Estudiar el comportamiento de la enfermedad meningocócica (EM) en Cataluña a lo largo del período 1990 a 1997 de casos notificados al sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO).

Métodos: Se han analizado los casos de EM notificados al sistema EDO. Se ha estudiado la edad, año de notificación y serogrupo. Se ha realizado un ajuste por regresión exponencial para estudiar la tendencia de la enfermedad y el cálculo de la OR y sus intervalos de confianza al 95% para estudiar la asociación entre variables.

Resultados: La tasa global del período ha sido de $4,8 \times 10^{-5}$ pers-año. El 63,5% de las notificaciones fueron por confirmación analítica (tasa de incidencia de $2,9 \times 10^{-5}$ pers-año). La tendencia global a lo largo del período ha presentando una constante de decrecimiento anual de $-0,11$ casos por 10^{-5} pers-año. Las tasas más altas del período han sido las registradas el año 1991 ($6,2 \times 10^{-5}$ pers-año) y el año 1997 ($5,4 \times 10^{-5}$ pers-año), mientras que la menor ha correspondido al año 1994 ($3,4 \times 10^{-5}$ pers-año). La distribución de los casos por grupos de edad ha sido la siguiente: los < 1 año han presentado las tasas de incidencia más altas ($74,5 \times 10^{-5}$ pers-año), seguidas de 1-4 años ($41,7 \times 10^{-5}$ pers-año), 5-9 años ($12,3 \times 10^{-5}$ pers-año), de 10-19 años ($5,9 \times 10^{-5}$ pers-año) y ≥ 20 años ($1,1 \times 10^{-5}$ pers-año). El porcentaje más alto de casos por serogrupo C a lo largo del período se ha observado el año 1997 (41,1% de los casos confirmados) (OR = 2,46; IC 95%: 1,79-3,30), seguido del año 1996 (30,7%) y el 1991 (28,7%). En los años de picos epidémicos (1991 y período 1996-1997) se ha observado un incremento estadísticamente significativo de casos por serogrupo C, especialmente en > 10 años (OR_{M-H}: 6,4; IC 95%: 4,68-8,76).

Conclusiones: La tendencia de la enfermedad durante el período 1990-1997 se ha mostrado estable ($-0,11$ casos por

10^{-5} pers-año). En los años que se han presentado las tasas de incidencia más altas se ha observado un incremento de casos por serogrupo C especialmente en > 10 años.

130

INCIDENCIA DE INFECCIÓN EN UNA UNIDAD PSIQUIÁTRICA DE AGUDOS

L. Metola, J.R. Blanco, V. Serrano, V. Ibarra, M. Vallejo y J.A. Oteo

Servicio de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas, Psiquiatría. Hospital de La Rioja.

Objetivo: Son escasas las referencias en la literatura sobre la incidencia de infecciones en las unidades de patología psiquiátrica aguda (UPA). Deseamos conocer la incidencia y la etiología en la UPA de nuestro Centro.

Material y métodos: Estudio prospectivo (abril 2000 - octubre 2001) de los pacientes ingresados en la UPA (unidad de referencia con un área de influencia de unos 260,000 habitantes). Las variables analizadas fueron: edad, sexo, índice de morbilidad Charlson, factores extrínsecos de riesgo, diagnóstico psiquiátrico (DSM III-R), tratamiento específico, presencia de fiebre, etiología infecciosa (criterios CDC), identificación microbiológica (técnicas microbiológicas estándar) y evolución.

Resultados: En el período analizado ingresaron en la UPA 681 pacientes. De estos, 64 (9,4%) presentaron alguna complicación infecciosa. La edad media ((DE) fue de 55,7 (16,7 años; el 68% eran mujeres. Los procesos infecciosos aparecieron en un intervalo de 0 a 102 días con una media de 17 días de ingreso. En el 74% no existía ningún factor de morbilidad. Entre los factores de riesgo destacaron: tabaquismo (30%), obesidad (27%) y disminución del nivel de conciencia (19%). Los principales diagnósticos psiquiátricos fueron: trastornos del humor (54%), esquizofrenia y otros trastornos psicóticos (26%). En el 10% coexistían al menos 2 patologías. Sus principales tratamientos fueron neurolépticos (62%), benzodiazepinas (49%), inhibidores de la recaptación de serotonina (36%). El 32% presentó fiebre. En el 76,6% la infección fue nosocomial. Las principales etiologías fueron urogenital (38%), respiratoria (38%) y dermatológica (14%). En el 44% se realizó una identificación microbiológica, predominando los gram-negativos (71%) por la alta incidencia de infección urogenital. En el 3,5% fue polimicrobiana. La evolución fue favorable en el 100% de los pacientes.

Conclusiones: En nuestra UPA, la incidencia de infección es del 9,4%. Las etiologías más frecuentes son la urogenital y la respiratoria.

131

CARACTERÍSTICAS VIROLÓGICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS DE UN BROTE DE SARAMPIÓN OCURRIDO EN BALEARES (2001)

J. Reina, F. Salvá, A. Galmes, M. Mosquera, J.E. Echevarría y R. Fernández-Muñoz

Grupo y Red de Vigilancia Española para el Sarampión.

Siguiendo las directrices establecidas por la OMS para la obtención del certificado de eliminación del sarampión para la región europea (2007) en el año 2001 se puso en marcha la red española de vigilancia y control frente a esta enfermedad vírica.

A través de la misma se detectó en el mes de junio un brote de sarampión localizado en la ciudad de Ibiza. Los 2 primeros casos correspondían a dos niños gemelos de 13 meses que presentaron un exantema, siendo positivos ambos para la IgG específica y uno también para la IgM. A raíz de

estos casos se inició el protocolo de búsqueda y control sistemático de todos los contactos. A lo largo de un mes desde el inicio se consideraron 10 pacientes como incluidos en el brote de sarampión. A 6 pacientes se les pudo realizar serología, siendo la IgM-positiva en 4 casos. Se tomaron muestras (orina y frotis faríngeo) para la realización del cultivo celular y la PCR (CNM, Majadahonda) a 6 pacientes, pudiendo aislarse el virus del sarampión tan solo en la orina de uno de ellos. La PCR de orina fue positiva en 2 pacientes y la de los frotis faríngeos en 5 casos. El virus aislado fue identificado como virus del sarampión (CNM, Majadahonda) y la secuenciación y genotipado (Centro de Referencia, Dr.R.Fernandez-Muñoz) estableció su pertenencia al genotipo D7. Los estudios epidemiológicos no pudieron establecer el origen del virus del sarampión que infectó a uno de los dos gemelos, a pesar de la revisión epidemiológica realizada, que fue considerado como caso índice (el cual infectó a su hermana). Ambos casos pertenecían a una guardería de la ciudad, estando asociados a la misma algunos de los casos. De los 10 casos, 5 habían recibido la vacuna triple vírica en el momento correspondiente y de ellos 3 presentaron un exantema tras la vacunación (clínica dentro del período de incubación). Las edades de los casos fueron: 13 m, 13 m, 19 m, 24 m, 16 a, 17 m, 12 m, 18 m, 33 m y 15 m.

La existencia de una red de vigilancia epidemiológica ha permitido la rápida y eficaz detección de este brote de sarampión.

132

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS FRENTE A CHLAMYDIA PNEUMONIAE EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO

G. Giménez, N. Rabella*, J. Altés, A. Vilamala, M. Simon y S. Sambeat*

*H. Comarcal de l'Alt Penedès (HCAP); *Hospital de Sant Pau, Barcelona.*

Objetivo: Estimar la prevalencia de anticuerpos frente a *Chlamydia pneumoniae* (Cp) en pacientes con infarto agudo de miocardio (IAM).

Método: Estudio de casos y controles. Casos: pacientes residentes en el área de influencia del Hospital, atendidos de forma consecutiva en el Servicio de Urgencias del HCAP con diagnóstico de IAM (criterio clínico y/o ECG, y enzimático CK-MB). Controles: pacientes ingresados de forma simultánea en el HCAP por otra patología (excluyendo enfermedades arteriales agudas, procesos respiratorios agudos o cardiopatía isquémica conocida). En ambos grupos se registraron factores de riesgo cardio-vascular (HTA, DM, dislipemia, tabaquismo). Método diagnóstico: microimmunofluorescencia (MIF-IgG) en muestras obtenidas en Urgencias (IAM) o en analítica de ingreso (controles). La técnica se realizó, en muestras congeladas, en otro centro (H. Sant Pau), desconociendo si se trataba de casos o controles. Se calculó un tamaño muestral mínimo de 40 pacientes por grupo para detectar como significativa una diferencia de seropositividad entre casos y controles de un 30% o superior. Análisis estadístico: SPSS-W.

Resultados: Entre mayo de 2000 y enero de 2001 fueron diagnosticados 54 casos de IAM, en 43 de los cuales (varones: 28; mujeres: 15) se pudo obtener muestra para serología de Cp. Edad media $\pm$ DE: $69,72 \pm 12,96$ años. Se seleccionaron 44 controles. No hubo diferencias significativas en edad y sexo. Tabaquismo activo en 24% de casos y 46% de controles ($p < 0,05$). 33 pacientes (76,7%) con IAM presentaron serología IgG positiva ($> 1/32$) frente a 20 controles (45,5%). *Odds Ratio*: 3,96 (CI95%: 1,57-9,97).

Conclusiones: los pacientes con IAM residentes en la comarca de l'Alt Penedès presentaron una mayor prevalencia de la infección por *Chlamydia pneumoniae* medida a través

de MIF-IgG que aquellos pacientes control ingresados por otra patología no cardio-vascular ni respiratoria. Estos resultados van a favor de la existencia de relación epidemiológica entre cardiopatía isquémica e infección por *Chlamydia pneumoniae*.

133

ASLAMIENTOS DE VIRUS RESPIRATORIO SINCITAL DEL SISTEMA DE INFORMACIÓN MICROBIOLÓGICA DE ANDALUCÍA (SIMAN)

B. Mahillo, M.J. Pereira, J.J. Cerezo, V. Gallardo, Grupo de trabajo del SIMAN

Servicio de vigilancia Epidemiológica. Consejería de Salud.

Objetivos: Descripción de aislamientos de virus respiratorio sincital (VRS) notificados por el SIMAN durante los años 1996-2000.

Metodología: Ámbito: Laboratorios del SIMAN (26,5% de las camas hospitalarias de la Comunidad Autónoma Andaluza). Diseño: Estudio descriptivo. Fuente de datos: Registro SIMAN. Variables: edad, género, tipo de muestra, servicio de procedencia, diagnóstico de sospecha, fecha del aislamiento. Análisis: Métodos descriptivos con el programa EPIINFO versión 6.0.

Resultados: Se notificaron un total de 15368 aislamientos microbiológicos en este período, de los que un 3,39% (n = 521) corresponde a VRS. La media de aislamientos anuales es de 104, oscila de 91 en 1998 a 125 en 1996. La frecuencia es mayor en hombres: 54,88% (n = 281) frente al 45,12% (n = 231) en mujeres, siendo la diferencia entre ambos porcentajes significativa (p < 0,00). La edad se recogió en el 56,05% de los casos (n = 292), siendo el 88,01% (n = 257) menores de 1 año. El 71,01% de los aislamientos (n = 370) se realizó entre la 3ª-10ª semanas epidemiológicas (segunda quincena de enero-primer quincena de marzo). El aislamiento se realizó en lavado nasofaríngeo en el 47,60% (n = 248), seguido de lavado nasal en el 46,83% (n = 244). El diagnóstico de sospecha constaba en un 42,03% (n = 219) de los pacientes, correspondiendo el 67,58% (n = 148) a bronquiolitis, seguido de infección respiratoria en el 21% de los casos (n = 46). En un 52,25% (n = 267) los pacientes procedían de plantas de hospitalización de Pediatría; en el 37,18% (n = 190) de la Unidad de lactantes. Sólo 3 casos (0,59%) procedían de Consultas externas de Pediatría.

Conclusiones: En nuestro ámbito la presentación del VRS es similar a la de otros (mayor frecuencia en menores de 1 año de edad, clínica de bronquiolitis y distribución estacional-invierno-). Se pone de manifiesto la importancia de la Declaración Microbiológica como herramienta en la vigilancia epidemiológica.

134

HEPATITIS AISLADA COMO FORMA DE PRESENTACIÓN DE LA FIEBRE Q: CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EPIDEMIOLÓGICAS EN 109 PACIENTES

M.J. Romero-Jiménez, I. Suárez-Lozano, J.A. Chacón, J.M. Fajardo Picó, A. Menchero Aranda, A. Benavente y A. de la Iglesia

Hospital Infanta Elena. Huelva.

Objetivos: Describir las características clínicas y epidemiológicas de la Hepatitis Aislada en la fiebre Q en 108 pacientes.

Pacientes y métodos: (1) *Diseño del Estudio:* Estudio descriptivo, mediante revisión retrospectiva de historias clínicas. (2) *Criterios de diagnósticos:* Cuadro clínico compatible, título de anticuerpos frente a *C. burnetti* >= 512. Hepatitis:

AST y/o ALT > x 2, (3) *Período de Estudio:* 1/1/1997-31/12/1999. (4) *Ámbito del Estudio:* Hospital General Básico de 350 camas

Resultados: 109 pacientes cumplían los criterios diagnósticos reseñados. Todos los pacientes eran de procedencia rural y no existía predominio estacional en la distribución de casos. 12 (11%) pacientes consumían leche no pasteurizada, 8 (7%) referían contacto con ganado, 39 (36%) con perros, 13 (12%) con pájaros, 10 (9%) ratas, 9 (8%) gatos.

	Fiebre Q sin hepatitis aislada N = 109	Fiebre Q con hepatitis aislada N = 54
Edad	32 (DE 13)	38 (DE13)
Sexo	100 (92%)	49 (91%)
Fiebre	107 (98%)	54 (100%)
Cefalea	84 (77%)	45 (83%)
Myalgias	45 (41%)	24 (44%)
Días Evolución	8 (DE 5)	9 (DE 7)
Fiebre autolimitada	65 (60%)	38 (70%)

Conclusiones: 1) La Hepatitis Aislada es la forma de presentación de la fiebre Q en el 49% de los pacientes. 2) La fiebre Q debe considerarse en el enfoque diagnóstico en personas con fiebre y citolisis hepática.

135

COMPLICACIONES BACTERIANAS DE LA VARICELA EN NIÑOS INMUNOCOMPETENTES: REVISIÓN DE 15 AÑOS

N. Hernández-González, M.J. García-Miguel, F. Baquero-Artigao, M.I. De José, C. Borque, F. Martínez-Cortés y F. del Castillo

Hospital Infantil La Paz.

Objetivos: Describir las complicaciones bacterianas de la varicela en niños sanos que requirieron ingreso hospitalario.

Material y métodos: Se revisaron las historias clínicas de los niños menores de 14 años hospitalizados por complicaciones bacterianas de la varicela durante un período de 15 años (1987-2001). Se consideraron complicaciones bacterianas las sobreinfecciones cutáneas, neumonías, artritis y osteomielitis. El análisis estadístico se realizó mediante el programa informático SPSS 9.0.

Resultados. Durante el período de estudio ingresaron 246 niños sanos diagnosticados de varicela, de los cuales 167 (67,8%) presentaron complicaciones bacterianas. La edad media fue de $3,3 \pm 2,7$ años (rango 2 meses-13 años). El 54,5% eran varones. Las sobreinfecciones cutáneas fueron las más frecuentes, encontrándose en 127 niños (76%), seguidas de las neumonías (20,3%), artritis (2,4%) y osteomielitis (1,2%). Dentro de las sobreinfecciones cutáneas, el impétigo fue la más frecuente (56%), seguido de la celulitis (36%). Se cultivaron 74 frotis cutáneos de los cuales 55 (74,3%) fueron positivos: *S. pyogenes*, 25 (45,5%), *S. aureus*, 19 (34,5%), *S. pyogenes* + *S. aureus*, 8 (14,5%), *S. viridans*, 2 (3,6%) y *S. pneumoniae*, 1 (1,9%). El 17,6% de las neumonías presentaron derrame pleural; la única bacteria aislada fue *S. pyogenes* en 4 niños. En las complicaciones osteoarticulares, *S. pyogenes* se aisló en 2 pacientes, un niño con osteomielitis de cadera y una niña con artritis de rodilla. Se realizaron 87 hemocultivos siendo positivos 13 (15%): *S. pyogenes* en 10 casos y *S. aureus* en 3. La media de días de hospitalización fue de $7,4 \pm 5,2$ (1-38).

Conclusiones. Las complicaciones bacterianas representan la primera causa de hospitalización en niños sanos con varicela. Las sobreinfecciones cutáneas son las más frecuentes, seguidas de las neumonías. La bacteria más frecuentemente aislada es *S. pyogenes*.