

Sesión 3

Aspectos microbiológicos y clínicos de las infecciones por micobacterias (I)

031

ESCROFULODERMIA PRODUCIDA POR *MYCOBACTERIUM CAPRAE*

O. Fraile¹, D. Navalpotro¹, M.J. Galindo², F. Alcácer², A. Aranaz³, R. Guna¹, C. Gimeno¹ y R. Borrás¹

¹Dept. de Microbiología, ²Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Clínico Universitario. Valencia, ³Dept. de Microbiología. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.

Objetivo: Presentar un caso de adenitis latero-cervical izquierda de etiología tuberculosa producida por *Mycobacterium caprae*.

Paciente y métodos: Mujer de 24 años de edad, que en marzo de 2005 acudió al Servicio de Urgencias de su hospital de área porque desde hacía poco tiempo presentaba fiebre vespertina y había notado la aparición de un nódulo en el lado izquierdo del cuello. La exploración física demostró la existencia en la cadena linfática latero-cervical izquierda de un ganglio del tamaño de una nuez, indurado, adherido a planos profundos, no doloroso y sin signos de inflamación. La paciente fue remitida a su médico de cabecera para control y tratamiento con antibióticos y anti-inflamatorios. Un mes más tarde, debido a la ausencia de mejoría clínica y a la aparición de otro nódulo en la cadena ipsi-lateral, se practicó PAAF ganglionar que permitió establecer el diagnóstico histopatológico de adenitis tuberculosa y el inicio del tratamiento específico con isoniazida (INH), rifampicina (RIF) y pirazinamida (PZA). A los tres meses, el tamaño de los nódulos había aumentado y alguno había fistulizado; se obtuvieron muestras (PAAF ganglionar, heces y jugo gástrico) para estudio microbiológico, que incluyó: observación microscópica de BAAR, detección de ADN genómico (PCR Real Time) y aislamiento en cultivo (MGIT960 y Löwenstein-Jensen -LJ-).

Resultados: Los exámenes microscópicos fueron negativos, y PCR Real Time permitió la detección de ADN en el aspirado ganglionar. El cultivo de PAAF en MGIT960 fue positivo a los 25 días para BAAR que fueron identificados como *Mycobacterium tuberculosis* complex. El estudio de sensibilidad demostró que era sensible a todos los fármacos ensayados (INH, RIF, PZA, estreptomina y etambutol). La diferenciación genética reveló características (crecimiento disgónico en LJ; sensibilidad a TCH 5 mg/L; niacina y nitrato negativas), que unidas a su sensibilidad a PZA, lo relacionaban con aislados de *M. bovis* PZA-sensible o con *M. caprae*. Un método de hibridación reversa (GenoType MTBC) permitió su identificación como *M. caprae*, hecho que fue confirmado mediante spoligotyping.

Conclusiones: Según las fuentes bibliográficas consultadas existen 86 descripciones retrospectivas en humanos, tres de ellas en España, y cinco casos prospectivos en Baviera, pero ninguno de ellos refiere afectación ganglionar. El caso presentado sería la sexta descripción no relacionada con estudios retrospectivos y la primera observación de adenitis tuberculosa en el hombre producida por *M. caprae*.

032

ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD GENÉTICA DE AISLADOS DE *MYCOBACTERIUM KANSASII* GENOTIPO 1 MEDIANTE AFLP

R. Guna, V. Domínguez, D. Navalpotro, C. Muñoz y R. Borrás
Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina
y Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Introducción: *M. kansasii* es una de las principales micobacterias no tuberculosas de interés médico. En nuestra área geográfica todos los aislados clínicos muestran gran similitud fenética y todos ellos pertenecen al genotipo 1, hechos que dificultan los estudios epidemiológicos. El objetivo de este estudio ha sido determinar la diversidad genética de aislados clínicos de *M. kansasii* genotipo 1 del área de influencia del Hospital Clínico Universitario de Valencia.

Material y métodos: Se ha analizado mediante AFLP la diversidad genética de 103 aislados clínicos identificados por métodos convencionales y moleculares como *M. kansasii* genotipo 1. Para lo cual, se procedió a la lisis celular (lisozima-proteínasa K- CTAB-NaCl) y extracción del ADN (clorofomo-álcohol isoamílico), que fue: 1) digerido con la restrictasa *Apa I*; 2) ligado a los adaptadores *Apa-1* y *Apa-2*; 3) amplificado con los iniciadores *Apa-A*, *Apa-C*, *Apa-T*. Los amplicones fueron separados en agarosa 2% (p/v) a 3,5 V/cm, durante 4 h, y teñidos con bromuro de etidio (0,5 mg/L).

Resultados: Con el primer Apa-A se obtuvieron de 4 a 8 bandas con tamaños relativos (TR) comprendidos entre 275 y 750 pb, que permitieron la definición de cinco patrones (A1-A5). Apa-C reveló la presencia de 4 a 5 bandas (TR: 270 a 650 pb) y la existencia de cinco patrones (C1 a C3); Apa-T, permitió constatar de 3 a 5 bandas (TR: 230 a 730 pb) y la existencia de 6 patrones (T1 a T6). El análisis de los resultados obtenidos con los tres primers permitió la definición de 14 clusters que fueron identificados según los criterios de Gaafar *et al.* (JCM, 41:3846-50; 2003). La similitud entre los clusters osciló entre el 73,3% y el 97%.

Conclusiones: AFLP es una técnica relativamente sencilla de realizar, reproducible y que permite discriminar entre aislados de un mismo genotipo de *M. kansasii*, por lo que consideramos que es una herramienta adecuada para llevar a cabo estudios epidemiológicos.

033

EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROGRAMA DE CONTROL EXTERNO DE CALIDAD SEIMC PARA EL DIAGNÓSTICO DE *MYCOBACTERIUM SMEGMATIS*

N. Orta¹, R. Guna¹, M. Lerma¹, J.L. Pérez^{1,2} y C. Gimeno^{1,3}

¹Programa de Control de Calidad SEIMC, ²Servicio de Microbiología. H. Son Dureta. Palma de Mallorca, ³Servicio de Microbiología. H. Clínico Universitario, ⁴Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina. Valencia.

Introducción y objetivos: El aumento de la población inmunodeprimida y la mejora de los métodos de identificación de micobacterias ha determinado un aumento del diagnóstico de las infecciones por especies de micobacterias no tuberculosas. Así, nos proponemos evaluar los resultados obtenidos en la identificación de *Mycobacterium smegmatis*, comparando dos envíos distintos del Control Externo de Calidad SEIMC.

Material y métodos: Se remitió una cepa de *M. smegmatis* en dos controles de diferentes años (MB-2/00 y MB-1/05), a una media de 85 laboratorios, comparándose los resultados obtenidos en la identificación con los de un laboratorio de referencia.

Resultados: En el envío del año 2000 (MB-2/00) el porcentaje de participación fue del 75,6%; de ellos, el 42,4% identificaron correctamente la cepa, un 36,7% la identificó como *Mycobacterium fortuitum* y el 27,2% aportaron otras identificaciones (uno de ellos informa que no pudo diferenciar entre *M. smegmatis* y *M. fortuitum*). Entre los métodos empleados en la identificación destacan las pruebas bioquímicas convencionales solas (71,2%) o asociadas a métodos de diagnóstico molecular (11,9%). En el envío del año 2005 (MB-1/05) el porcentaje de participación fue del 82,8%; de ellos, el 58,4% identificaron correctamente la cepa, sólo un 14,3% informó como *M. fortuitum* y el 27,3% aportaron otras identificaciones (dos de ellos informaron coinfección por *M. smegmatis* y *M. fortuitum*). Entre los métodos empleados en la identificación destacan las pruebas bioquímicas convencionales, utilizadas de forma única (32,5%) o asociadas a métodos de diagnóstico molecular (7,8%), en este caso en el 20,8% se utilizaron técnicas de hibridación inversa.

Conclusiones: Se ha observado un aumento en el porcentaje de participación en el control y mayor porcentaje de identificaciones correctas, aunque se mantiene la confusión entre *M. smegmatis* y *M. fortuitum*, debido a que muchos laboratorios sólo emplean pruebas bioquímicas convencionales para el diagnóstico. La hibridación inversa es, en el año 2005, el segundo método más utilizado por los participantes, lo que va asociado posiblemente al aumento del porcentaje de identificaciones correctas. Todo ello avala la mejor capacitación diagnóstica de nuestros laboratorios y la posible intervención del Programa de Control de Calidad SEIMC en la formación continuada de los participantes, ya que cada control va acompañado de revisiones sobre el tema.

034

ENFERMEDAD POR *M. AVIUM* COMPLEX: AÑOS 1997-2005

L. Medina-Gens¹, M.I. Campos-Herrero¹ y N. Montesdeoca²

¹Servicio de Microbiología, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, ²Unidad de Enfermedades Infecciosas, Hospital Materno-Infantil, Las Palmas de Gran Canaria.

Objetivos: 1) Conocer la frecuencia de enfermedad por *M. avium* complex (MAC) respecto a la de tuberculosis y a la de otras micobacteriosis en los últimos 9 años; 2) Describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con enfermedad por MAC.

Métodos: Se revisaron retrospectivamente las historias clínicas de los pacientes con aislamiento de MAC entre los años 1997 y 2005. Para el diagnóstico de enfermedad se siguieron los criterios de la ATS 1997. MAC se identificó mediante técnicas genéticas (sondas de ADN y/o amplificación más hibridación en fase sólida).

Resultados: Se diagnosticaron 924 casos nuevos de enfermedad por micobacterias: 861 (93,2%) tuberculosis y 63 (6,8%) micobacteriosis, de las que 14 (1,5%) correspondieron a MAC. Las especies de micobacterias no tuberculosas (MNT) más frecuentes fueron: MAC (9 *M. avium*, 2 *M. intracellulare*, 3 MAC), *M. fortuitum* (10), *M. abscessus* (6) y *M. simiae* (6). Los pacientes con enfermedad por MAC eran 11 mujeres y 3 varones, 10 adultos (edad media 39,7 años) y 4 niños (edad media 2,9 años). La presentación de la enfermedad fue: linfadenitis (5), pulmonar (4), diseminada (4) y osteomielitis (1). Siete (50%) pacientes estaban inmunodeprimidos en el momento de la infección: 4 adultos infectados por el VIH (28,6%) con recuentos inferiores a 100 linfocitos CD4/ μ l, 1 adulto con una neoplasia hematológica y 2 niños con una inmunodeficiencia congénita; de ellos, 4 desarrollaron la enfermedad de forma diseminada. Siete pacientes (5 con linfadenitis y 2 con enfermedad pulmonar) no tenían ninguna enfermedad de base previa. En el 42,9% de los pacientes la baciloscopia de la muestra diagnóstica fue positiva. Cuatro de las linfadenitis se trataron con cirugía, con o sin fármacos antimicobacterianos, y el resto de los cuadros clínicos se trataron con 2 a 4 fármacos, incluyendo siempre etambutol.

Conclusiones: 1) El complejo MAC produjo menos del 2% de la enfermedad por micobacterias y fue la MNT más frecuente en el periodo de tiempo estudiado; 2) La mitad de los pacientes con enfermedad por MAC estaban inmunodeprimidos en el momento de la infección, mientras que el 50% restante no presentaba ninguna enfermedad de base.

035

EVALUACIÓN IN VITRO DE LA CAPACIDAD DE ADHERENCIA A SUTURAS DE POLIPROPILENO EN MICOBACTERIAS NO PIGMENTADAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO

N. Zamora¹, J. Esteban¹, A. Celdrán², J.J. Granizo³, A. Ortiz¹, C. Zafra¹ y M.L. Fernández Alonso¹

¹Microbiología Clínica, ²Cirugía General y Digestivo,

³Epidemiología. Fundación Jiménez Díaz-UTE. Madrid.

Objetivos: Evaluar la capacidad de adherencia de *M. chelonae* y *M. fortuitum* a hilo de sutura de polipropileno.

Material y métodos: Se analizaron aislamientos clínicos de *M. fortuitum* y de *M. chelonae*. Se estudiaron también cepas de colección de *M. chelonae* (ATCC 19235), *M. septicum* (ATCC 700731) y *M. fortuitum* (ATCC 13756). La capacidad de adherencia se determinó incubando fragmentos de sutura de 2 cm de longitud de calibre 0 en una dilución bacteriana con una concentración equivalente a 0,5 McFarland. Posteriormente los fragmentos se sonicaron a baja potencia durante 5 min y se cuantificaron las micobacterias adheridas

mediante diluciones seriadas 1:10. Se realizó un estudio estadístico con dicha cuantificación mediante el programa SPSS 9.0. Con los datos recogidos, se obtuvo una correlación entre la cantidad de inóculo y las bacterias adheridas. Los recuentos se analizaron en escala logarítmica.

Resultados: Se estudiaron 5 cepas de *M. fortuitum* y 7 cepas de *M. chelonae* procedentes de muestras clínicas, 4 de ellas clínicamente significativas (1 *M. fortuitum* y 3 *M. chelonae*), además de las cepas de colección. La mediana de los recuentos de los inóculos obtenidos fue de $6,9 \times 10^8$ UFC/ml para *M. fortuitum* y de $4,1 \times 10^8$ UFC/ml para *M. chelonae*. Las medianas de las cantidades de bacterias fue de $6,7 \times 10^4$ UFC para *M. fortuitum* y de $3,7 \times 10^4$ UFC para *M. chelonae*. La cepa de colección de *M. septicum* dio lugar a un recuento de 9×10^6 UFC para un inóculo de 5×10^8 UFC/ml. Tras el análisis estadístico, no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas entre las dos especies ($p = 0,637$; Mann Whitney), pero sí una correlación entre la concentración del inóculo original y la cantidad de bacterias adheridas a catéteres ($r = 0,828$; $p < 0,001$; Spearman).

Conclusiones: Las micobacterias de crecimiento rápido de las especies *M. fortuitum* y *M. chelonae* se adhieren a suturas de polipropileno. No existen diferencias estadísticamente significativas en la capacidad de adherencia de las 2 especies estudiadas.

Financiación: Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI03/0146). N. Zamora es beneficiaria de una beca predoctoral de la Fundación Conchita Rábago de Jiménez Díaz.

036

ENFERMEDAD PULMONAR POR *M. KANSASII*: ANÁLISIS DE 33 CASOS

S. Terraza¹, J.A. Amiguet², C. Ramos¹, P. Arazo¹, A. Vitoria³, M.A. Lezcano⁴ y J. Cuesta²

¹Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas, ⁴Microbiología.

Hospital Miguel Server, ²Enfermedades Infecciosas,

³Microbiología. Hospital Clínico Lozano Blesa. Zaragoza.

Objetivos: Valorar las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de los pacientes con enfermedad pulmonar por *M. kansasii* en Zaragoza.

Pacientes y métodos: Estudio retrospectivo de diez años de duración (1990-1999), en el Hospital Miguel Servet, Hospital Clínico Lozano Blesa, y Hospital Royo Villanova. Para el diagnóstico de enfermedad pulmonar se emplearon los criterios de la American Thoracic Society (ATS).

Resultados: Durante el periodo del estudio se obtuvieron 88 pacientes con aislamientos de *M. kansasii* procedentes de muestras respiratorias. Aplicando los criterios de la ATS, se diagnosticaron 33 casos de enfermedad pulmonar. El número de casos diagnosticados incrementó en la segunda parte del estudio (13 vs. 20). El 78,8% eran varones, y la edad media de 44 años. Entre los factores de riesgo predominaron el tabaquismo (81,8%), el alcoholismo (27,3%), la infección por el VIH (21,2%), el antecedente de tuberculosis (18,2%), y la neumopatía (18,2%). La media del recuento de linfocitos CD4 fue de $51/\mu\text{L}$. El síndrome respiratorio fue el cuadro clínico más frecuente (84,8%), seguido por el s. febril (63,6%), y el s. constitucional (36,4%). En la radiografía de tórax se observó cavitación en el 88,2% de los pacientes VIH negativos, y en 28,6% de los VIH positivos ($p < 0,05$). La incidencia de afectación unilateral fue de 82,4% en los no infectados por el VIH, y del 14,3% en los VIH positivos ($p < 0,05$). Todos los pacientes recibieron tratamiento, siendo los fármacos más frecuentemente empleados la rifampicina (100%), el etambutol (87,9%), y la isoniazida (84,8%). El 72,4% de los pacientes, en los que se había iniciado terapia antituberculosa ante la obtención de una baciloscopia positiva, precisaron un cambio de tratamiento. Se observaron efectos secundarios en el 33,3% de los casos. Con el tratamiento, todos los pacientes no infectados por el VIH evolucionaron favorablemente, frente al 42,9% en los VIH positivos ($p < 0,05$). La incidencia de recidiva fue del 5,3%.

Conclusiones: En nuestro medio, la mayoría de los pacientes con enfermedad pulmonar por *M. kansasii* no están infectados por el VIH. El incremento en la incidencia de enfermedad pulmonar por *M. kansasii*, puede estar en relación con cambios en la distribución y una mayor virulencia de estas micobacterias ambientales. Es necesario técnicas de cultivo e identificación más precoces, debido al alto porcentaje de pacientes que precisan un cambio de tratamiento tras iniciar terapia antituberculosa.

037

ENFERMEDAD PULMONAR POR *M. AVIUM* COMPLEX EN ZARAGOZA

S. Terraza¹, J.A. Amiguet², A. Vitoria³, M.A. Lezcano⁴, P. Arazo¹, C. Ramos¹, M.J. Crusells² e I. Sanjaquín²

¹Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas, ⁴Microbiología.

Hospital Miguel Server, ²Enfermedades Infecciosas,

³Microbiología. Hospital Clínico Lozano Blesa. Zaragoza.

Objetivos: Valorar las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de los pacientes con enfermedad pulmonar por *M. avium* complex (MAC) en Zaragoza.

Pacientes y métodos: Revisión de historias clínicas de los pacientes con aislamientos de MAC en muestras respiratorias, en el Hospital Miguel Servet, Hospital Clínico Lozano Blesa, y Hospital Royo Villanova, desde 1990 a 1999. Para el diagnóstico de enfermedad pulmonar se emplearon los criterios de la American Thoracic Society (ATS).

Resultados: Durante el periodo del estudio se obtuvieron 78 pacientes con aislamientos de MAC procedentes de muestras respiratorias. Aplicando los criterios de la ATS, se diagnosticaron 15 casos de enfermedad pulmonar. Entre 1990-1994 se obtuvieron el 46,7% de los casos, y entre 1995-1999 el 53,3%. El 66,7% eran varones, y la edad media de 46 años. Entre los factores de riesgo predominaron el tabaquismo (73,3%), la infección por el VIH (40%), el antecedente de tuberculosis (40%), el alcoholismo (33,3%), y la hepatopatía (33,3%). La media del recuento de linfocitos CD4 fue de $19/\mu\text{L}$. El síndrome respiratorio fue el cuadro clínico más frecuente (93,3%), seguido por el s. febril (66,7%), y el s. constitucional (53,3%); y la tos y/o expectoración el síntoma predominante (86,7%). El 60% de los pacientes presentaron afectación radiológica unilateral, y el 53,3% mostraron cavitación radiológica de predominio en lóbulos superiores. Todos los pacientes recibieron tratamiento, siendo los fármacos más frecuentemente empleados el etambutol (73,3%), la rifampicina o rifabutina (66,7%), la isoniazida (60%), y los macrólidos (40%). Se observaron efectos secundarios en el 40% de los casos. Con el tratamiento, todos los pacientes no infectados por el VIH evolucionaron favorablemente, y el 33,3% de los VIH positivos. Se observó recidiva en el 22,2% de los casos considerados curados.

Conclusiones: La enfermedad pulmonar por *M. avium* complex, en nuestro medio, se presenta predominantemente en pacientes no infectados por el VIH. La evolución en los pacientes VIH negativos es excelente, a diferencia de los VIH positivos, debido a la inmunosupresión y asociación con enfermedades relacionadas con el SIDA. Hemos observado un alto porcentaje de recidiva, posiblemente en relación con la baja utilización de los macrólidos durante el periodo estudiado.

038

SEGUIMIENTO CLÍNICO DE LOS PACIENTES CON AISLAMIENTOS DE *MICOBACTERIUM AVIUM* COMPLEX (MAC) EN MUESTRAS RESPIRATORIAS

J.V. San Martín¹, J. Ruiz Giardin¹, J. Jaquetti², A. Barrios¹, N. Cabello¹ y A. Zapatero¹

¹Medicina Interna, ²Microbiología. Fuenlabrada. Madrid.

Objetivos: El aislamiento de micobacterias atípicas en muestras microbiológicas está aumentando en los últimos

años por los avances en las técnicas de cultivo pero su relevancia clínica no es bien conocida.

Material y métodos: Estudio descriptivo de todos los pacientes con aislamiento de MAC en nuestro hospital desde Abril 04 hasta Nov05. Se revisaron si cumplían los criterios diagnósticos (clínicos, radiológicos y microbiológicos) de la ATS.

Resultados: 110 muestras respiratorias fueron positivas para MAC, obtenidas de 77 pacientes (edad media 55,3, varones 60). 6 pacientes (8%) eran VIH positivos y 7 (9%) inmigrantes. 44 (57%) tenían enfermedad pulmonar de base, 24 (31%) con bronquiectasias. Cumplían criterios clínicos 36 (47%), criterios radiológicos 28 (36%) y criterios microbiológicos 10 (8%). 37 pacientes (48%) no cumplieron criterios clínicos por la presencia de diagnóstico alternativo, y en 10 (13%) que cumplían criterios radiológicos inicialmente se confirmó no progresión radiológica durante el seguimiento. 24 (31%) pacientes tenían dos o más muestras positivas, pero sólo en 2 casos se vieron BAAR en la tinción. Sólo cumplieron los tres criterios y se consideraron patógenos 4 casos (5%), sólo 1 era VIH. Ninguno tenía enfermedad pulmonar de base y dos fueron BAAR positivos. Todos se diagnosticaron al recibir los resultados microbiológicos, sin que de momento ninguna muestra considerada inicialmente como contaminante se haya considerado como patógeno durante el seguimiento. En total 8 pacientes iniciaron tratamiento antituberculoso empírico al informarse del crecimiento de micobacterias. Otros 3 pacientes se diagnosticaron de sarcoidosis que se resolvieron sin tratamiento específico de MAC.

Conclusiones: 1. El aislamiento de MAC en nuestro centro es elevado, y los criterios de la ATS son útiles para determinar su relevancia clínica. Sin embargo, la petición de cultivo de micobacterias se realiza en el contexto de una clínica y radiología anómala, por lo que muchos pacientes cumplen inicialmente criterios clínicos o radiológicos, entre los que son de gran utilidad la presencia de diagnóstico alternativo y la no progresión clínica y radiológica en la evolución sin tratamiento. 2. La presencia de BAAR es muy sugerente de patogenicidad. 3. Hasta ahora, el seguimiento de los pacientes con muestras consideradas contaminantes no ha mostrado por el momento que ninguna tenga relevancia clínica.

039

ACTIVIDAD DE VARIOS FARMACOS EN ASOCIACION FRENTE A MYCOBACTERIUM FORTUITUM Y MYCOBACTERIUM CHELONAE

M. Ruiz, J.C. Rodríguez, E. García-Pachón, I. Escribano, L. Soler, P. López, M. López y G. Royo

S. Microbiología. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. Elche. Alicante.

Objetivo: Estudiar la actividad de la asociación de varios fármacos frente a *M. chelonae* y *M. fortuitum* en crecimiento exponencial y en estado latente.

Material y métodos: Cepas estudiadas: 5 aislados clínicos de *M. chelonae* y 15 de *M. fortuitum*. Antibióticos ensayados: Ciprofloxacino, levofloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino, linezolid, claritromicina, azitromicina, rifampicina y rifabutin. Se analizaron 22 combinaciones de dos fármacos y 23 combinaciones de 3 fármacos de diferente familia. Procedimiento: 10⁵ cfu se cultivaron en 5 ml de caldo Mueller Hinton (MH) con las distintas combinaciones de antibióticos. Tras incubación a 37°C durante 4 días, se determinó si las combinaciones de antibióticos habían logrado disminuir el inóculo inicial en un 99,9% mediante cuantificación en placa de MH. Este procedimiento se realizó por duplicado, uno con microorganismos en crecimiento exponencial (pH 6,6) y otro con microorganismos en estado latente (pH 4,6).

Resultados: Ninguna de las combinaciones mostró actividad frente a más del 50% de las cepas de las dos especies estudiadas en estado latente. Ninguna combinación muestra mayor actividad frente a *M. chelonae* que gatifloxacino, moxifloxacino o claritromicina estudiadas de forma aislada (activas fren-

te a 3 de las 5 cepas estudiadas). En crecimiento exponencial, las combinaciones de gatifloxacino y moxifloxacino con rifampicina son las que muestran mayor actividad frente a *M. fortuitum* (14 de 15 cepas), seguidas de las combinaciones de gatifloxacino y claritromicina (13 de 15), moxifloxacino y claritromicina (12 de 15) y moxifloxacino y rifabutin (12 de 15). En general la adición de un tercer fármaco no aumenta la actividad, salvo la combinación de gatifloxacino, rifabutin y claritromicina que es activa frente a todas las cepas.

Conclusiones: Todos los fármacos se muestran más activos frente a microorganismos en fase exponencial, lo que sugiere la necesidad de realizar tratamientos prolongados para asegurar la curación y prevenir recaídas. También se pone de manifiesto la necesidad de desarrollar nuevos fármacos con mayor actividad, especialmente frente a *M. chelonae*. Por otra parte, la diferencias encontradas entre ambas especies, remarca la necesidad de lograr la identificación correcta de las micobacterias de crecimiento rápido antes de administrar el tratamiento.

040

GENERACIÓN IN VITRO DE MUTANTES RESISTENTES DE MYCOBACTERIUM CHELONAE Y MYCOBACTERIUM FORTUITUM TRAS EXPOSICIÓN REPETIDA A CLARITROMICINA Y MOXIFLOXACINO

J.C. Rodríguez, E. García-Pachón*, M. Ruiz, P. López, F. Loredó y G. Royo

S. Microbiología, *S. Neumología. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández. Elche. Alicante.

Objetivo: Comparar la capacidad de generación de mutantes de *M. fortuitum* y *M. chelonae* resistentes a claritromicina o a moxifloxacino tras exposición repetida a concentraciones subinhibitorias de estos compuestos.

Material y métodos: Cepas: 5 aislados clínicos de *M. fortuitum* y 5 aislados de *M. chelonae* sensibles a estos compuestos. Generación de mutantes: Se cultivaron los microorganismos en 10 ml de caldo Mueller Hinton con concentraciones subinhibitorias de los antibióticos (0,015 mg/L y 0,125 ug/L). Tras 24 h de incubación a 37 °C se subcultivaron los microorganismos en otro tubo con el mismo medio y la misma concentración de antibiótico. Este proceso se repitió 25 veces. En los pasos 5, 10, 15, 20 y 25, se realizó además un subcultivo en medio sólido para detectar la presencia de mutantes resistentes a los fármacos. Determinación de la sensibilidad antibiótica: Se determinó la CMI mediante la inoculación del microorganismo en placas de MH con diluciones seriadas de antibióticos e incubación durante 4 días.

Resultados: Tras 25 exposiciones repetidas a claritromicina y moxifloxacino, todas las cepas estudiadas generaron mutantes resistentes a estos compuestos, pero el tiempo de generación de estos mutantes es variable es función de cada especie y del antibiótico ensayado. Así, tras la exposición a claritromicina, 8 cepas generaron mutantes al cabo de 5 exposiciones, una necesitó 10 y otra necesitó 15; esto supone una media de 6.5 exposiciones (7 para *M. fortuitum* y 6 para *M. chelonae*). En cambio, tardaron más tiempo en generar mutantes resistentes cuando se ponían en contacto con moxifloxacino; así, 4 cepas ya tenían mutantes tras 10 exposiciones, 2 cepas necesitaron 20 y el resto necesitó 25 exposiciones; esto hace que la media sea de 18 exposiciones (13 para *M. fortuitum* y 23 para *M. chelonae*).

Discusión: La exposición repetida a concentraciones subinhibitorias de ambos fármacos genera mutantes resistentes a los mismos, por lo que nuestro trabajo apoya la idea de administrar dosis adecuadas para alcanzar concentraciones suficientemente elevadas en el lugar de la infección. También apoya la idea, generalmente aceptada de no administrar monoterapia para el tratamiento de estas infecciones. Por otra parte, moxifloxacino es un fármaco más seguro en monoterapia que claritromicina, a la hora de prevenir la aparición de cepas resistentes.

041

INFECCIÓN POR *MYCOBACTERIUM KANSASII* EN ESPAÑA (2000-2005): DATOS DEL GRUPO ESPAÑOL DE ESTUDIO DE *M. KANSASII* (GEMKA)

F. Alcaide, E. Cardenosa, L. Calatayud, M. Santín, J. Dorca, R. Martín y GEMKA

Servicios de Microbiología, Enfermedades Infecciosas y Neumología. Hospital Universitario de Bellvitge-IDIBELL, Barcelona.

Objetivos: 1) Conocer la frecuencia, distribución geográfica y patogenicidad de la infección por *Mycobacterium kansasii* en España; 2) Estudiar la relación con diferentes factores demográficos y ambientales; 3) Analizar la distribución de los diversos subtipos de *M. kansasii* aislados en España.

Materiales y métodos: Estudio retrospectivo (3 años) y prospectivo (3 años) de todos los pacientes infectados por *M. kansasii* en las 17 Comunidades Autónomas (CA) de España en el periodo 2000-2005. Los casos de infección por *M. kansasii* fueron detectados en 92 laboratorios de microbiología (GEMKA). Los datos demográficos, clínicos y microbiológicos fueron registrados en una encuesta estandarizada. La significación clínica se realizó según los criterios de la American Thoracic Society. La caracterización genética de los aislamientos de *M. kansasii* a nivel de subespecie (uno por paciente) se llevó a cabo mediante PCR-RFLP del gen *hsp65*.

Resultados: Un total de 866 casos fueron identificados en el periodo de estudio en 15 CA: Catalunya (n = 281), Euskadi (n = 251), Valencia (n = 79), Madrid (n = 64), Aragón (n = 62), Asturias (n = 46), Andalucía (n = 26), Navarra (n = 15), Castilla-León (n = 16), Cantabria (n = 9), Canarias (n = 7), Galicia (n = 4), Extremadura (n = 3), Murcia (n = 2), y Castilla-La Mancha (n = 1). Las cuatro CA con más casos detectados están entre las que tienen una mayor densidad poblacional. La edad media de los pacientes fue de 54 años y el 78,1% fueron varones. Los pacientes VIH-seropositivos (12,4%) fueron más jóvenes que los pacientes no infectados por el VIH (edad media de 38 vs. 56 años, $p < 0,001$). La enfermedad por *M. kansasii* fue detectada en el 73% y 77,6% de los pacientes VIH-seropositivos y VIH-seronegativos, respectivamente. La afectación pulmonar se observó en el 97,3% de los casos. De los 5 subtipos detectados (I, II, III, IV y V) del total de cepas de *M. kansasii* disponibles (n = 349) de las diferentes áreas geográficas, el 92,5% fueron subtipo I y el 4,9% subtipo II.

Conclusiones: *M. kansasii* es un aislamiento micobacteriano frecuente y patógeno en múltiples regiones geográficas de España, especialmente en las zonas más densamente pobladas. A pesar de la heterogeneidad de los aislamientos de *M. kansasii*, el subtipo I parece ser el más prevalente en España con una amplia distribución geográfica.

042

EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS EN LA IDENTIFICACIÓN DE LOS SUBTIPOS DEL COMPLEJO *MYCOBACTERIUM KANSASII*. RESULTADOS DEL GRUPO ESPAÑOL DE ESTUDIO DE *M. KANSASII* (GEMKA)

E. Cardenosa, F. Alcaide, L. Calatayud, M. Santín, J. Dorca, R. Martín y GEMKA

Servicios de Microbiología, Enfermedades Infecciosas y Neumología. Hospital Universitario de Bellvitge-IDIBELL, Barcelona.

Introducción: Actualmente, se conocen 7 subtipos de *M. kansasii*, identificados molecularmente mediante PCR-RFLP del gen *hsp65*. Esta heterogeneidad tiene importantes implicaciones patogénicas y clínicas, como ha sido notificado recientemente. Sin embargo, se desconoce la posible correlación existente entre la diversidad genotípica y fenotípica de la especie.

Objetivo: Conocer la habilidad de los métodos fenotípicos para identificar los diferentes subtipos que componen el complejo *M. kansasii*.

Materiales y métodos: Se estudiaron 230 aislamientos de *M. kansasii* disponibles (uno por paciente) procedentes de 15 Comunidades Autónomas Españolas en el periodo 2000-2005. El estudio fenotípico se basó en la velocidad y temperatura óptima de crecimiento, fotocromogenicidad, reducción de nitratos, actividad de la catalasa, ureasa y arilsulfatasa, hidrólisis del Tween80, reducción del telurito potásico, prueba de la niacina y el crecimiento en agar MacConkey sin cristal violeta. El estudio genotípico se llevó a cabo mediante la PCR-RFLP de gen *hsp65*. Además se realizó una hibridación con sondas de DNA (AccuProbe, BioMérieux).

Resultados: Todas las cepas hibridaron con las sondas de DNA. Cinco genotipos diferentes fueron identificados: genotipo I (n = 212; 92,2%), II (n = 13; 5,6%), III (n = 2; 0,9%), IV (n = 1; 0,4%) y V (n = 2; 0,9%). Fenotípicamente se observaron 11 biotipos mayores diferentes de *M. kansasii* en función de las principales pruebas de identificación: biotipo 1 (n = 159; 69,1%), 2 (n = 14; 6,1%), 3 (n = 9; 3,9%), 4 (n = 30; 13%), 5 (n = 9; 3,9%), 6 (n = 3; 1,3%), 7 (n = 2; 0,9%), 8 (n = 1; 0,4%), 9 (n = 1; 0,4%), 10 (n = 1; 0,4%) y 11 (n = 1; 0,4%). Todas las cepas del biotipo 1 fueron genotipo I y las del biotipo 4 y 2 fueron mayoritariamente genotipo I (93,3%) y genotipo II (71,4%), respectivamente.

Conclusiones: 1) Aunque la mayoría de las cepas de *M. kansasii* presentaron una gran homogeneidad fenotípica clásica de esta especie, casi un tercio de los aislamientos mostraron resultados atípicos según las pruebas bioquímicas básicas de identificación. 2) Se constata la heterogeneidad de la especie, si bien un solo subtipo (genotipo I), parece ser el más prevalente en España y con una notable homogeneidad fenotípica. 3) La identificación de subtipo en *M. kansasii* mediante métodos convencionales no parece ser útil debido a la gran biodiversidad y la escasa correlación entre los biotipos y genotipos observados en este complejo.

043

ADENITIS POR MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS EN NIÑOSF. Baquero Artigao¹, A. Méndez Echevarría¹, M.J. García Miguel¹, M.P. Romero Gómez² y F. del Castillo Martín¹¹Unidad de Infectología Pediátrica, ²Servicio de Microbiología. Hospital Infantil la Paz.

Objetivo: Estudiar las características epidemiológicas, clínicas y evolutivas de las linfadenitis por micobacterias no tuberculosas.

Métodos: Estudio retrospectivo de 54 pacientes menores de 14 años diagnosticados de linfadenitis por micobacteria atípicas entre 1987 y 2004. Los criterios de inclusión fueron: 1. PCR o cultivo positivo, 2. Test de sensitinas positivo con valor superior en 6 mm al Mantoux, 3. Hallazgos anatomopatológicos compatibles con infección por micobacterias, Mantoux menor de 10 mm y ausencia de factores de riesgo de infección tuberculosa.

Resultados: Se detectaron 54 casos de adenitis por micobacterias no tuberculosas. Entre 1987 y 1996 encontramos pocos casos de adenitis no tuberculosa (1,2 casos/año). Desde 1997 se observó un aumento llamativo en la aparición de adenitis no tuberculosas, encontrando desde 1997 a 2004 5,25 casos/año. La edad media de los pacientes fue de 2 años 11 meses. Todos los pacientes eran inmuno-competentes. La localización más frecuente fue submaxilar (35,5%) y laterocervical (32,2%). Se observaron granulomas en el 71% de las muestras analizadas y necrosis caseosa en el 34%. Se realizó Mantoux a 42 pacientes, presentando induración superior a 10 mm en 8/42 (19%). La presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes tras tinción de la muestra se constató solo en el 19,4% de los casos realizados. En 43 pacientes (79%) se obtuvieron muestras para cultivo y/o es-

tudio molecular (PCR). El cultivo fue positivo para micobacteria no tuberculosa en el 52,9% de los casos y la PCR en el 53,3% de los casos en los que se realizó. La micobacteria más frecuentemente aislada en el cultivo fue *M. avium* 14 casos (61%), aislándose también otras micobacterias: *M. scrofulaceum* (1), *M. chelonae* (1), *M. simiae* (1) y *M. lentiflavum* (1). Los pacientes tratados inicialmente con antibióticos presentaron un 38% de fracasos terapéuticos (8/21 casos) y los tratados con drenaje un 77% (10/13 casos). El 100% de los casos con exéresis (8/8) consiguió la curación definitiva.

Conclusiones: Los casos de adenitis por micobacterias no tuberculosas han aumentado desde 1996 en nuestro hospital. La rentabilidad de los cultivos es baja y el Mantoux puede presentar falsos positivos, lo cual dificulta el diagnóstico. La exéresis quirúrgica fue el tratamiento más eficaz. Sin embargo, en adenitis que presenten difícil abordaje quirúrgico y en recurrencias post-exéresis el tratamiento farmacológico puede ser útil.

044

IMPACTO DE LA INMIGRACIÓN EN LAS RESISTENCIAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* EN LA PROVINCIA DE CASTELLÓN: 1995-2003

M.D. Tirado, R. Moreno, F. González, F. Pardo, B. Gomila y M. Marín

Sección de Microbiología y Sección de Neumología. Hospital General de Castellón, Servicio Epidemiología. Dirección General Salud Pública. Valencia.

Objetivo: Conocer la frecuencia de resistencias de *M. tuberculosis* en la provincia de Castellón y la influencia que la inmigración tiene en las mismas.

Material y métodos: Estudio retrospectivo (1995-2003) de todos los casos de tuberculosis diagnosticados con cultivo positivo y estudio de sensibilidad. El antibiograma se llevó a cabo por el método de Canetti y, desde el 2002, por el sistema MB/BacT. Se recogieron los datos de las encuestas epidemiológicas: sexo, edad, nacionalidad, ingreso hospitalario, factores de riesgo para la tuberculosis, y antecedentes de tratamiento antituberculoso previo.

Resultados: Hubo 644 casos, 69,6% hombres y 30,4% mujeres, la edad media fue de 40,5 años. El 90,4% no tenían antecedentes de tuberculosis. Un 87% eran españoles y el 13% extranjeros, de éstos un 6,9% provenían de Rumania y un 23,8 % de Marruecos. El número de casos en españoles disminuyó con los años, y el de extranjeros aumentó, el 70,2% de los casos en estos últimos se produjo en el periodo 2000-2003. El 80% estuvo hospitalizado. El factor de riesgo más prevalente fue el consumo de tabaco (30,4%). La tasa de resistencia global fue del 5% (INH 4,3%, ST 1,9%, RIF 0,6%, ETB 0,1%). Los años que mostraron mayor porcentaje de resistencia fueron 2002 y 2003 (10,9% y 10,8%, respectivamente). La resistencia en españoles fue del 3,7% y del 13,1% en extranjeros (marroquíes 20%, y rumanos 6,4%). Las resistencias en casos nuevos representaron un 4,6% (3,2% en españoles frente al 13,9% en inmigrantes) y las resistencias en casos previamente tratados, todos españoles, un 6,7%. La multiresistencia fue del 0,5%. Los pacientes con cepas resistentes eran más jóvenes, extranjeros en mayor proporción, habían recibido tratamiento previo en un porcentaje más elevado; mayor proporción de fumadores, consumidores de alcohol y serología VIH +, pero estas diferencias solo son estadísticamente significativas para la variable nacionalidad extranjera ($p < 0,001$).

Conclusiones: La tuberculosis ha ido disminuyendo en pacientes españoles y aumentando en extranjeros. La resistencia global de *M. tuberculosis* en españoles fue mucho menor que en extranjeros. En los últimos años del estudio aumentan las resistencias sobretudo en inmigrantes. La única variable asociada a la resistencia ha sido la nacionalidad extranjera.

045

MICOBACTERIAS EN INMIGRANTES (SECTOR III DE ZARAGOZA): EVOLUCIÓN DE RESISTENCIAS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* Y RELACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

P. Macipe¹, A. Vitoria¹, A.I. López-Calleja, C. Lafoz, J.A. Amiguet², M. Pardos¹, I. San Joaquín² y C. Rubio¹

¹Lab. Microbiología y Parasitología, ²Servicio Enfermedades Infecciosas. H. Clínico Universitario Lozano Blesa. Zaragoza.

Objetivos: Conocer las características clínico-epidemiológicas de los aislamientos de micobacterias en población inmigrante en nuestra área. Valorar la relación epidemiológica de los casos de tuberculosis con los clusters hallados en el periodo de estudio.

Material y métodos: Recogimos los casos diagnosticados en inmigrantes, durante 2000-05 en el Hospital Clínico "Lozano Blesa". Estos fueron confirmados, con aislamiento de alguna micobacteria en el laboratorio de microbiología de dicho Centro. A las cepas de *M. tuberculosis* se les realizó RFLP en la Unidad de micobacterias de la Universidad de Zaragoza (Junio 2001-Diciembre 05). Estudiamos edad, sexo, procedencia, años de estancia en España, forma de presentación, positividad de la baciloscopia, tratamiento indicado, cumplimentación, éxito ó fracaso del mismo, así como sensibilidad a tuberculostáticos. Relacionamos las cepas de los pacientes con los clusters encontrados durante el periodo de estudio.

Resultados: De un total de 509 aislamientos de micobacterias, 366 fueron identificadas como *M. tuberculosis* y 143 como micobacterias atípicas. De ellas 78 correspondían a inmigrantes: 71 diagnosticados de tuberculosis (19,45%), y 7 micobacterias atípicas (3 *M. fortuitum*, 2 *MAI* y 2 *M. goodii*). La enfermedad apareció con más frecuencia en varones jóvenes. La mayoría de los casos fueron pulmonares (79,22%) frente a las formas extrapulmonares (20,77%). El 50,70% de los casos con aislados de *M. tuberculosis* fueron baciloscopia positiva. Aparecieron resistencias en 10 cepas, siendo 61 el total de cepas resistentes en nuestra población (16,39%), sólo una de ellas multiresistente (a los 4 fármacos de primera línea). Encontramos patrones de RFLP semejantes, en varios pacientes, con clusters encontrados durante dicho periodo en nuestro Sector, 3 de ellos pertenecientes al mismo grupo. Estudiamos estos pacientes recogiendo aspectos epidemiológicos, en relación con tiempo de residencia en nuestro país y movilidad geográfica.

Conclusiones: La tuberculosis es más frecuente en población inmigrante que en población autóctona. La forma pulmonar es la forma de presentación más habitual. Las resistencias a fármacos entre población inmigrante/no inmigrante de nuestro Sector, no presentaron diferencias significativas. Mediante biología molecular se puede conocer la diseminación de las cepas y valorar su origen según años de estancia en nuestro país.

046

ENFERMEDAD TUBERCULOSA MULTI-RESISTENTE EN LA EDAD PEDIÁTRICA

F. Baquero¹, A. Méndez¹, Y. Ballesteros², P. Rojo², B. Larrú¹, J. García³, F. del Castillo¹ y M.J. García Miguel¹

¹Unidad de Infectología Pediátrica. Hospital Infantil La Paz.

²Unidad de Infectología Pediátrica. Hospital 12 de Octubre.

³Servicio de Microbiología. Hospital La Paz.

Objetivo: Estudiar las características clínicas, epidemiológicas y evolutivas de las tuberculosis multiresistentes diagnosticadas desde 1994 en dos hospitales pediátricos de referencia.

Material y métodos: Revisión de las historias clínicas de niños menores de 15 años diagnosticados de tuberculosis multiresistente. Se incluyen: 1. Pacientes con aislamiento

de *M. tuberculosis* multirresistente. 2. Pacientes sin aislamiento que debutaron tras contacto con enfermo tuberculoso multirresistente bacilífero.

Resultados: Se incluyen 7 niños: 6 tuberculosis pulmonares y 1 artritis. La edad media fue 4 años (6 meses – 15 años). Cuatro pacientes (57%) eran extranjeros (2 dominicanos, 1 rumano y 1 chino). En 4 casos (57%) se identificó contacto con adulto enfermo. Los motivos de consulta fueron: síntomas respiratorios (3), contacto con enfermo bacilífero (3) y tumefacción articular (1). Se aisló *M. tuberculosis* en jugo gástrico (3 casos) y biopsia sinovial (1 caso). En tres pacientes no se consiguió aislamiento, pero referían contacto estrecho con tuberculosis multirresistente. Las resistencias observadas fueron: IHN y RF (1), INH, RF y SM (4) e INH, RF, SM y PZ (1). Una de las cepas presentó resistencia a 11 fármacos. Cinco pacientes recibieron tratamiento inicial con INH, RF y PZ, sin presentar mejoría. El tratamiento una vez conocido el estudio de resistencias se administró una media de 15 meses (12-18 meses). Seis casos recibieron tratamiento con 4-5 fármacos activos según el estudio de sensibilidades. El paciente con resistencia a 11 fármacos recibió tratamiento con PAS y levofloxacino. Se observaron los siguientes efectos secundarios: aumento de CPK (1) y tendinitis transitoria del aquileo (1), alteración discreta de potenciales evocados visuales (1), aumento del úrico (4) y psicosis transitoria (1). Un paciente requirió lobectomía pulmonar por lesión cavitada de mala evolución. Todos los pacientes evolucionaron hacia la curación.

Conclusiones: La tuberculosis multirresistente debe sospecharse en casos de mala evolución clínica, especialmente si proceden de zonas con altas tasas de resistencia. Deben estudiarse todas las personas que tengan relación frecuente con el paciente. En los niños con cultivos negativos que debuten tras contacto con *M. tuberculosis* multirresistente, el tratamiento se realizará según el estudio de resistencias del contacto. La resistencia limita las opciones terapéuticas y conlleva la utilización de fármacos con posibles efectos tóxicos.

termedio (57,1%). Entre las cepas sin mutaciones predominaron las CMI de bajo nivel (55,3%). Las CMI se distribuyeron más en los niveles de concentración bajos y moderados independientemente del tratamiento. Las mutaciones en *katG* fueron las más frecuentes en las cepas de los pacientes sin tratamiento (46,4%). Entre los pacientes tratados se observó con mayor frecuencia la ausencia de mutaciones en ambos genes (52%). Los pacientes tratados presentaron con mayor frecuencia cepas multiresistentes (61,5%). Las mutaciones en *inhA* se asociaron con mayor frecuencia a monoresistencia (65,5%) y la multiresistencia se asoció más con *katG* (50,0%). La poliresistencia fue similar en pacientes tratados (15,3%) y sin tratar (17,8%).

Conclusiones: 1) La mutación en el codón 315 de *katG* fue la más frecuente. 2) La mutación en *inhA* se asoció con CMI bajas y la mutación en *katG* con CMI intermedias. 3) La mutación en *katG*, fue la más frecuente en pacientes sin tratamiento previo, mientras que en los pacientes tratados, frecuentemente no se hallaron mutaciones. 4) Los pacientes tratados previamente presentaron con mayor frecuencia aislamientos multiresistentes, mientras que la poliresistencia fue similar en ambas situaciones. 5) La mutación en *inhA* se asoció con mayor frecuencia a monoresistencia y en *katG* con multiresistencia.

047

CARACTERIZACIÓN GENOTÍPICA DE LA RESISTENCIA DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* A LA ISONIACIDA EN LA CIUDAD DE BARCELONA DURANTE UN PERÍODO DE 8 AÑOS

J. González Martín¹, A.S. Cabrera¹, F. Alcaide², D. Andrés³, L.M. Aragón⁴, S. Juárez¹, N. Martín³, M. Martínez², M. Salvadó⁵ y P. Coll⁴

¹S. de Microbiología. H. Clínic-IDIBAPS, ²S. de Microbiología. H. U. Bellvitge-IDIBELL, ³S. de Microbiología. H. U. Vall d'Hebron, ⁴S. de Microbiología. H. U. Sant Pau, ⁵Laboratori de Referència de Catalunya.

Objetivo: Caracterizar las mutaciones asociadas a la resistencia de *M. tuberculosis* a la isoniácida y correlacionar dichas mutaciones con la CMI, los antecedentes de tratamiento y el tipo de resistencia.

Métodos: *Pacientes:* 127 pacientes, 19,8% con tratamiento previo y 66,2% sin tratamiento previo. *Cepas:* 127 cepas resistentes a isoniácida, aisladas consecutivamente en Barcelona (1995-2003). *Caracterización genotípica:* secuenciación de 106pb alrededor del codón 315 de *katG* y de 118pb de la región reguladora de *inhA-mabA*. *Caracterización fenotípica:* CMI en medio radiométrico (concentraciones: 0,1 a 12,8 µgr/ml). Se definió la resistencia de bajo nivel como la CMI entre 0,1-0,8 µgr/ml, la de nivel intermedio entre 1,6-6,4 µgr/ml y la de alto nivel ≥ 12,8 µgr/ml.

Resultados: Ochenta y cinco cepas (66,9%) presentaron mutaciones, 56 (44,1%) en *katG* y 29 (22,8%) en *inhA*. Todas las alteraciones en *katG* se dieron en el codón S315T (CTG→GTG en 40 cepas y CTG→TTG en las 16 restantes). En 27 cepas la mutación en *inhA* se dio en la posición -15C-T. El 89,6% de las cepas con alteraciones en *inhA* tenían una CMI de bajo nivel. Las mutaciones en *katG* se distribuyeron en los 3 rangos de resistencia predominando las de nivel in-