

Nuestro objetivo fue analizar los aislamientos de Micobacterias No Tuberculosas (MNT) en nuestro laboratorio durante los últimos 4 años (2004-2007).

Material y métodos: Las muestras para estudio fueron descontaminadas con NaOH y N-acetil-L-cisteína por el método MycoPrep® (BBL®) e inoculados en el medio líquido Bact-Alert 3D® (bioMérieux®) y en Lowenstein-Jensen. Los aislados se identificaron mediante métodos genotípicos y/o fenotípicos. Finalmente se evaluó el significado clínico de los aislados por estudio de las características clínicas y microbiológicas de cada uno de los pacientes.

Resultados: Se obtuvieron 139 cepas de MNT correspondientes a 78 pacientes, rango de edad (21-92 años). La distribución por años (2004, 2005, 2006 y 2007) fue de 22, 14, 19 y 23 casos respectivamente; resultando una incidencia de un 13,3%, 10,9%, 17,8% y 15,6% sobre el total de micobacterias aisladas en ese período. Un total de 59 aislados pudieron identificarse a nivel de especie de micobacteria: *M. avium* (13), *M. gordonaiae* (11), *M. fortuitum* (6), *M. chelonei* (6), *M. intracellulare* (4), *M. xenopi* (3), *M. frederiksbergense* (3) *M. abscessus* (2), *M. marinum* (2), *M. szulgai* (3), *M. peregrinum* (2), *M. poriferae* (1), *M. lentiflavum* (1), *M. malmoense* (1) y *M. nonchromogenicum* (1). Las cepas de MNT se aislaron preferentemente en muestras respiratorias (57). Otras localizaciones fueron: cutáneas (8), heces (3), orina (3), sangre (2), ganglio (2) y otras (3). *Mycobacterium avium* (complejo) fue implicado en todos los casos de aislamiento de sangre, heces y ganglios. En 32/78 aislados (41,0%), los pacientes cumplían criterios clínico-patológicos de probable significación clínica.

Conclusiones: 1) En nuestra área las MNT alcanzan actualmente un 15% de las micobacterias aisladas, no observándose diferencias en la distribución de las diferentes especies en el período estudiado; 2) Los métodos genotípicos permitieron identificar algunas de las nuevas especies descritas recientemente (*M. frederiksbergense* y *M. poriferae*); 3) Es de destacar la importancia del aislamiento e identificación de MNT ya que, en nuestro estudio, más del 40% de las cepas aisladas fueron clínicamente valorables.

133

RELACIÓN ENTRE LA MOVILIDAD Y LA CAPACIDAD DE DESARROLLAR BIOFILM EN MICOBACTERIAS NO PIGMENTADAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO

D. García-Almeida¹, N. Z. Martín de Hijas¹, A. Celdrán², R. Fernández-Roblas¹, I. Gadea¹ y J. Esteban¹

¹Servicio de Microbiología, ²Servicio de Cirugía, Fundación Jiménez Díaz.

Introducción: Los Glicopeptidolípidos de la pared de las MNPCR están implicados en la formación de biofilm, así como en la movilidad por deslizamiento. Ambas características estarían relacionadas en las cepas que se han estudiado.

Objetivos: Evaluar la movilidad por deslizamiento de distintas cepas de MNPCR y relacionarla a su vez con la capacidad de dichas cepas para producir biofilm.

Material y métodos: Se realizó el estudio de la movilidad de aislamientos de MNPCR y de cepas de colección en medio de movilidad constituido por caldo Middlebrook 7H9 suplementado con un 0,3% agar. La medición de los diámetros de movilidad se llevó a cabo tras 7 días de incubación a 37º C. El estudio de formación de biofilm se realizó en placas microtiter. Se evaluó también la relación entre la presencia de movilidad y la significación clínica de los aislamientos.

Resultados: Para el estudio se utilizaron 20 cepas de colección pertenecientes a 16 especies distintas (*M. abscessus*, *M. alvei*, *M. brumae*, *M. cheloneae*, *M. elephantis*, *M. fortuitum*, *M. goodii*, *M. immunogenum*, *M. mageritense*, *M. mucogenicum*, *M. peregrinum*, *M. porcinum*, *M. senegalense*, *M. septicum*, *M. smegmatis* y *M. wolinskyi*) y 167

Aspectos microbiológicos y clínicos de las infecciones por micobacterias

132

ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LAS MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS DESDE 2004 A 2007 EN UN HOSPITAL TERCIARIO DE LA COMUNIDAD BALEAR

C.I. Marínescu¹, A. Medio¹, J. Vegué², M.A. Delgado¹, J.L. Pérez¹ y A. Ramírez¹

¹Servicio de Microbiología, ²Hospital Universitario Son Dureta, Palma de Mallorca, ²Hospital de la Vall d'Hebron, Barcelona.

Introducción: En los últimos años se han descrito nuevas especies de micobacterias implicadas en patología humana.

aislamientos clínicos de 9 especies distintas (9 *M. abscessus*, 2 *M. alvei*, 30 *M. chelonae*, 90 *M. fortuitum*, 5 *M. mageritense*, 8 *M. mucogenicum*, 21 *M. peregrinum*, 1 *M. porcinum* y 1 *M. septicum*).

Presentaron movilidad 71 de las cepas frente a las 116 que presentaron movilidad negativa. La mayor movilidad se daba en *M. abscessus* y *M. chelonae*. Tampoco se evidenció ninguna relación entre la presencia de movilidad y el significado clínico de los aislamientos. (diámetro medio 11,48 mm) mientras que en *M. peregrinum* (diámetro medio 6,68 mm) se daba la menor de todas. Se encontraron diferencias significativas entre *M. chelonae* y *M. peregrinum* ($p = 0,031$); y entre las de *M. fortuitum* y *M. peregrinum* ($p = 0,002$). En la formación de biofilm se obtuvo que únicamente no lo formaban 45 de las cepas. No se detectaron diferencias significativas en la movilidad entre las cepas que formaban biofilm como en las que no lo hacían; exceptuando el caso de

Conclusiones: La presencia de movilidad por deslizamiento no es una característica presente de modo uniforme en las MNPCR, y tampoco la presencia de ésta se asocia de forma constante con la capacidad de producir biofilm ni con el significado clínico de los aislamientos. Únicamente se obtuvo una relación significativa movilidad-biofilm en *M. chelonae*.

134

LOS MACRÓFAGOS ESPUMOSOS SON LAS CÉLULAS CLAVE QUE PERMITEN LA PERSISTENCIA Y DISEMINACIÓN DE LA INFECCIÓN POR *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*

N.Cáceres^{1,2}, G.Tapia³, I. Ojanguren³, O.Gil^{1,2}, S. Pinto^{1,2}, C. Vilaplana^{1,2} y P-J. Cardona^{1,2*}

¹Unitat de Tuberculosi Experimental (UTE). Institut per a la Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol. Universitat Autònoma de Barcelona. Badalona. ²CIBER Enfermedades Respiratorias. ³Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona.

Objetivos: La fase crónica de la infección inducida por *M. tuberculosis* en el modelo experimental de ratón se caracteriza por la acumulación de macrófagos espumosos (ME), que rodean el exterior del granuloma ocupando los espacios alveolares. Algunos de estos ME contienen bacilos ácido-alcohol resistentes. El objetivo de este estudio es caracterizar los ME y los bacilos que se hallan en su interior para averiguar su significado fisiológico.

Material y métodos: Se infectaron cobaias y ratones spf mediante aerosolización con la cepa H37Rv Pasteur de *M. tuberculosis*. En diferentes tiempos postinfección se extrajeron los pulmones. El lavado bronco-alveolar (LBA) se obtuvo mediante la inyección intratraqueal de solución isotónica. Los pulmones extraídos se fijaron en formol, se procesaron y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina y Ziehl-Neelsen (ZN) para ser analizados mediante microscopía óptica. Granulomas aislados de los mismos pulmones se fijaron en Karnovsky y se procesaron para ser analizados mediante microscopía electrónica de transmisión. Se obtuvieron cytopins a partir de LBA de ratón que se tiñeron con los métodos Auramina O/phenol, ZN y el colorante Nile Red (NR) y se analizaron después con microscopía de fluorescencia. Suspensiones de *M. tuberculosis* H37Rv Pasteur y *E. coli* ATCC se tiñeron con NR para ser analizadas mediante citometría.

Resultados: Se muestra la presencia de cuerpos lipídicos (CL) en los macrófagos desde el inicio de la infección, acumulándose en la fase crónica para generar cristales de colesterol. La microscopía electrónica y la tinción con NR permiten observar inclusiones lipofílicas intracelulares (ILIs) dentro de los bacilos de *M. tuberculosis* que están en el interior de los ME.

Discusión y conclusiones: Estos datos confirman el papel de los ME en el drenaje de bacilos en estado no replicativo.

Estos bacilos serán transportados por el fluido alveolar hacia el árbol bronquial superior, dónde tendrán la oportunidad de formar parte de los aerosoles generados con la inspiración. Al estar en estado no replicativo, estos bacilos tendrán una mayor capacidad para resistir futuras condiciones de estrés previas a la reinfección del propio hospedador o para infectar nuevas personas. De esta manera los ME se convierten en células claves para la perpetuación de *M. tuberculosis*.

Agradecimientos: Bill and Melinda Gates Foundation: Grand Challenge #12; TBVAC Consortium; Plan Nacional I+D+I FIS CM06/00123; Programa de becas FPU del Ministerio de Educación y Ciencia.

135

AISLAMIENTO DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* EN MUESTRAS BIOLÓGICAS EN EL ÁREA SANITARIA DE CEUTA EN EL PERÍODO 2004 A 2007

J. López-Barba, S. Martínez, T. Orgaz, S. Hijano, I. José y J. Díaz

S. de Microbiología. Hospital del Instituto Nacional de Gestión Sanitaria de Ceuta.

Objetivos: Estudiar los aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* realizados en el Laboratorio de Microbiología (LM) del Hospital INGESA de Ceuta, pertenecientes a muestras biológicas recibidas entre enero de 2004 y diciembre de 2007.

Material y métodos: Las muestras han sido procesadas mediante tinción de Ziehl-Neelsen (ZN) y cultivo en medio MGIT (BACTEC MGIT 960®-Becton-Dickinson®). La identificación se ha producido mediante el sistema Genprobe (Biomerieux®). El antibiograma a cuatro fármacos (Isoniacida, Rifampicina, Estreptomicina y Etambutol) ha sido efectuado en el sistema BACTEC MGIT 960®. Los datos se trataron con el sistema STATGRAPHICS Plus.

Resultados: Durante el año 2004 se registraron 38 aislamientos de micobacterias, 9 previamente detectadas mediante ZN (23,68%). En 2005 se registraron 49 aislamientos, 11 de ellas detectadas previamente mediante ZN (22,44%). Durante el año 2006 se registraron 27 aislamientos, 10 de ellas detectadas previamente mediante ZN (37%). Durante el año 2007 se han registrado 77 aislamientos, 29 de ellas detectadas previamente mediante ZN (37,66%). Al observar la incidencia de los aislamientos de cepas nuevas por año y por 10^5 habitantes obtenemos los siguientes datos: 2004: 50,2, 2005: 64,73, 2006: 36,16, 2007: 102,8. Por edades los pacientes con más aislamientos son los situados entre 20 y 40 años (46,93%). Por sexo el 82% de los casos se ha dado en hombres y el 18% en mujeres. El 35% de las cepas aisladas pertenecían a pacientes cuya residencia habitual no estaba fijada en Ceuta; bien por pertenecer a países que no son miembros de la Unión Europea (UE) o por encontrarse de paso entre África y Europa. Todas las cepas se han identificado como *Mycobacterium tuberculosis complex*. Las resistencias mostradas han sido: isoniazida (12%), estreptomicina (10%), rifampicina (2%) y etambutol (2%); con un porcentaje de multirresistencias del 1%. La muestras positivas corresponden a esputos (79,71%), broncoaspirados (8,7%), abscesos (4,35%), líquido pleural (2,9%), líquido cefalorraquídeo (2,9%) y un 1,45% a otras muestras.

Conclusiones: 1. Se ha detectado un incremento muy llamativo de aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* en el último año. 2. La incidencia de casos detectados microbiológicamente es muy superior a las detectadas en el resto de España y la UE. 3. Los niveles de multirresistencias son bajos. 4. Existe un porcentaje de aislamientos considerable de pacientes de países no comunitarios que suponen una mayor carga de trabajo en el LM.

136

TUBERCULOSIS EN UN ÁREA DE MALLORCA. TENDENCIAS EN EL PERÍODO 2003-2007

C. Cifuentes¹, M. García-Gasalla¹, I. Mir², A. Pareja³, M.C. Pérez-Seco⁴, A. Payeras¹, S. Pons², I. Losada¹, C. Morey¹, A. Ortiz¹ y M.C. Gallegos⁴

¹S. de Medicina Interna, ²S. de Neumología, ³U de Epidemiología, ⁴S. de Microbiología, Hospital Son Llàtzer, Palma de Mallorca.

Objetivos: Conocer las características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas de la enfermedad tuberculosa en nuestro medio.

Material/Métodos: Estudio descriptivo de los casos de tuberculosis diagnosticados en el H. Son Llàtzer que asiste a una población aproximada de 250.000h con distribución urbano-rural de Mallorca. Se recogen datos clínicos, epidemiológicos y microbiológicos del periodo enero 2003-dic 2005.

Resultados: Se diagnosticaron 228 casos de tuberculosis en el periodo referido, 61,1% en varones. La edad media fue de 41,5 años (DE: 18,7), 55,1% fumadores. 148 (64,6%) eran autóctonos y el resto emigrantes de otros países: 37 (16,2%) originarios de Centro-Sud América, 31(13,6%) de África, 4 (1,8%) de Europa central o del Este, 4 del Oeste de Europa, 3 (1,3%) de la Ex-URSS y un caso (0,4%) de Pakistán.

El número de casos y la proporción de población emigrante fue variable en los diferentes años (tabla):

Año	2003	2004	2005	2006	2007
Total de casos	36	46	45	42	59
Nº de extranjeros (%)	5 (13,8%)	13 (28,3%)	20 (44,4%)	11 (26,2%)	32 (54,2%)

Las localizaciones fueron: pulmonar 144 (62,9%), pleural 23 (10%), ganglionar 19 (8,3%), extrapulmonar única 30 (13,6%) -de las cuales meníngea 11- y diseminada con afectación de 2 o más órganos en 12 (5,2%).

El cultivo para micobacterias fue positivo en 169 (73,8%), el diagnóstico fue anatomiopatológico en 31 (13,5%), por el estudio de ADA en 35 (15,3%) y por PCR para *M. tuberculosis* positiva en dos casos (0,9%).

Se pudo realizar antibiograma en 169 casos: en 10 se observó resistencia a isoniacida, 6/44 (13,6%) casos en 2007, 2/30 (6,7%) en 2006, 2/30 (6,6%) en 2005, ningún caso en los años anteriores. Los pacientes con resistencia a isoniacida no habían recibido previamente tratamiento para la tuberculosis, eran autóctonos en 5 casos (2 en 2007, 1 en 2006, 2 en 2005), y extranjeros en el resto. La mortalidad atribuible a tuberculosis fue de 4,4%, la tasa de abandono de tratamiento de 6,6%.

Conclusiones: El número de casos de tuberculosis ha aumentado de forma significativa en nuestro área en el último año, sin que exista relación con ningún brote y sobre todo a expensas de la población emigrante. A partir de 2005 se observa la aparición de resistencias a isoniacida, con una incidencia de hasta 13,6% en 2007, en población emigrante y autóctona. Si se confirma esta tendencia, será necesario plantear tratamiento inicial con 4 fármacos tuberculostáticos en todos los pacientes de nuestro área.

137

ACTIVIDAD IN VITRO DE VARIOS FÁRMACOS, SOLOS O EN ASOCIACIÓN, FRENTE A MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO EN FASE LATENTE

R. Cremades, A. Santos, E. López, J.C. Rodríguez, E. García-Pachón*, M. Ruiz, P. López y G. Royo

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

Objetivo: Realizar un proceso de cribado para conocer los fármacos más activos frente a aislados clínicos de *M. fortuitum*, *M. chelonae* y *M. peregrinum* en fase latente de crecimiento. Influencia de la combinación de dos o tres fármacos

Material y métodos: Cepas: 26 aislados clínicos de *M. fortuitum*, 11 de *M. chelonae* y 2 de *M. peregrinum*. Se identificación por métodos clásicos, por LIPA (Innogenetics) y por secuenciación del 16 S. **Procedimiento:** Un inóculo bacteriano de 10⁶ ufc se puso en contacto con una concentración de 2 µg/ml de cada antibiótico en caldo Mueller Hinton. Tras 3 días de incubación, se realizó un subcultivo en agar sangre para comprobar la capacidad esterilizante de los fármacos en este modelo in vitro. El estado latente de los microorganismos se logró con un ajuste el pH del medio a 4,6. **Antibióticos:** Frente a *M. chelonae* se ensayaron los siguientes fármacos: claritromicina, amikacina, tobramicina, imipenem, moxifloxacino y linezolid. Además, se analizaron 14 combinaciones de 2 ó 3 fármacos. Frente a *M. fortuitum* y *M. peregrinum* se analizaron: levofloxacino, moxifloxacino, claritromicina, amikacina, imipenem, linezolid, rifampicina y doxiciclina. Además, se analizaron 16 combinaciones de 2 ó 3 fármacos

Resultados: Frente a *M. chelonae*, ningún fármaco sólo o en asociación muestra actividad frente a más del 30% de las cepas (4/11). La combinación triple formada por claritromicina, moxifloxacino y amikacina es la que presenta actividad frente a más cepas.

Frente a *M. fortuitum* y *M. peregrinum*, los mejores resultados se obtiene con la asociación entre moxifloxacino y alguno de los siguientes fármacos: amikacina, imipenem, linezolid, rifampicina y doxiciclina (actividad frente a 82,1% de las cepas)

Conclusiones: El tratamiento de las infecciones por micobacterias no tuberculosas es complejo debido a diversas causas: falta de correlación de los estudios in vitro clásicos con la respuesta clínica, necesidad de administrar tratamientos prolongados con varios fármacos, etc. Se ha sugerido que la capacidad esterilizante de los fármacos y su actividad sobre microorganismos en fase latente pueden ser dos factores muy importantes en la utilidad de los mismos. Nuestro trabajo muestra que, entre los fármacos ensayados, ninguno muestra buena actividad frente a *M. chelonae* en fase latente, mientras que, frente a las otras dos especies estudiadas, las combinaciones de moxifloxacino con varios fármacos muestra resultados alentadores que deben ser confirmados en ensayos clínicos o modelos animales.

138

ACTIVIDAD IN VITRO DE ISONIACIDA, RIFAMPICINA Y VARIAS FLUOROQUINOLONAS FRENTE A *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*: ESTUDIO DE LA CAPACIDAD ESTERILIZANTE TRAS EXPOSICIONES CORTAS

R. Cremades, A. Santos, E. López, J.C. Rodríguez, E. García-Pachón*, M. Ruiz, P. López, F. Loredo y G. Royo

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

Objetivo: Conocer la actividad de isoniacida, rifampicina y varias fluoroquinolonas para esterilizar los cultivos de *Mycobacterium tuberculosis* tras exposición corta (1 ó 2 días)

Material y métodos: Cepas: Dos cepas de *M. tuberculosis* sensibles a todos los fármacos por los métodos clásicos: ATCC Mt 41323 y HGUE 35. **Antibióticos utilizados:** Isoniacida (0,1, 0,2, 0,5 µg/ml), rifampicina (1, 2 y 5 µg/ml), ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino a (0,5, 1, 2 y 5 µg/ml).

Métodos: a.- *Método de las proporciones:* El estudio de la sensibilidad a isoniacida y a rifampicina fue realizada mediante el sistema BACTEC y mediante el método de las proporciones (Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid). b.- *Concentración mínima inhibitoria:* (J.C. Rodríguez et al. Int J Antimicrob Agents 2002; 20: 464-7). c.- *Concentración preventiva de mutaciones:* Concentración de antibió-

tico que inhibe el crecimiento de un elevado inóculo bacteriano 10^{10} ufc (J.C. Rodríguez et al. J. Antimicrob Chemother 2004; 53: 441-4). *d.- Actividad esterilizante in vitro tras exposición corta a los fármacos:* Se pusieron en contacto un inóculo bacteriano de 10^5 ufc con diversas concentraciones de fármacos durante 1 y 2 días; se comprobó la capacidad esterilizante de los mismos mediante subcultivos en medios sin antibióticos. Límite de detección de la técnica: 2000 microorganismos.

Resultados: A pesar de que las dos cepas presentan valores semejantes y considerados como sensibles mediante la determinación de la CMI y la CPM, encontramos diferencias importantes en la tercera técnica empleada.

Frente a la cepa ATCC 41323, isoniacida, rifampicina y moxifloxacino muestran capacidad esterilizante de los cultivos tras exposiciones de 1 y 2 días; levofloxacino sólo presenta esta actividad a dosis altas (1, 2 y 5 ug/ml) y ciprofloxacino no se muestra activo a ninguna de las concentraciones ensayadas. En cambio, ningún antibiótico muestra capacidad esterilizante frente a la otra cepa

Conclusiones: Se ha comunicado que una de los mejores métodos para controlar esta enfermedad es acortar los tratamientos (Global Alliance for Tuberculosis Drugs Development; 2001) por lo que los fármacos deben tener actividad esterilizante. Observamos que los fármacos comparados presentan diferencias en esta actividad, siendo isoniacida, rifampicina y moxifloxacino los más activos. Por otra parte, los resultados son diferentes en función de la cepa, a pesar de que son consideradas ambas como sensibles por los métodos clásicos. En este modelo, moxifloxacino es más activa que las otras fluoroquinolonas, sin embargo, deben realizarse estudios más amplios, para comprobar la importancia clínica de este parámetro.

139

UTILIDAD DE LA PCR A TIEMPO REAL EN EL DIAGNÓSTICO DEL DERRAME PLEURAL TUBERCULOSO: MODELO EXPERIMENTAL

A. Santos, R. Cremades, J.C. Rodríguez, E. García-Pachón*, F. Loredo, N. García, M. Ruiz, P. López y G. Royo
*S. Microbiología; *S. Neumología. Hospital General Universitario de Elche. Universidad Miguel Hernández.*

Objetivos: Desarrollo de un modelo experimental para comparar la utilidad de diferentes sistemas de extracción de DNA en el diagnóstico del derrame pleural tuberculoso.

Material y métodos: *Líquidos pleurales:* Alícuotas de 1 ml de volumen de 24 líquidos pleurales con cultivo negativo a bacterias habituales y a M. tuberculosis. A cada alícuota se le añadió 1000 microorganismos de un cultivo de M. tuberculosis previamente cuantificado.

Métodos de extracción de DNA comparados: *Método A:* Sistema descrito por Van Embden et al (utilización de detergentes, enzimas, fenol-cloroformo e isopropanol). *Método B:* Lisis de la muestra y purificación con QIAamp® DNA Mini Kit. (Qiagen). *Método C:* TNAI mediante el robot Cobas AMPLIPrep (Roche). *Método D:* Proceso manual basado en procesos de congelación y descongelación. *Método E:* Procedimiento de congelación y purificación con la resina Chelex® 100. *Método F:* Proceso manual basado en calentamiento a 100°C. *Método G:* Sistema basado en la utilización de detergentes (SDS y Tritón 20). *Método H:* DNA IQ™ Casework Sample Kit mediante el robot Maxwell 16.

Cuantificación del DNA: Mediante diluciones seriadas de micobacterias previamente cuantificadas y comparación del número de ciclos que amplifica la muestra.

Resultados: Existen grandes diferencias de sensibilidad entre los sistemas ensayados, siendo el método B el que consigue mejores resultados (detecta la presencia de DNA de micobacterias en todas las muestras y además obtiene más cantidad de DNA de micobacterias) seguido de método C (detecta DNA en todas las muestras pero en menor cantidad).

dad). El método A y E detectan DNA en 12 y 23 de 24 muestras respectivamente. El resto de los procedimientos muestran malos resultados.

En cuanto al tiempo de realización de cada muestra, también existen grandes diferencias: A: 4 h 21'; B: 3 h 19'; C: 50'; D: 1 h 42'; E: 1 h 55'; F: 33' G: 35'; H: 30'.

Respecto al coste por muestra, A: 0,52 €; B: 5,23 €; C: 10 €; D: 0,16 €; E: 0,31 €; F: 0,16 €; G: 0,23 €; H: 2,25 €.

Conclusiones: Los trabajos publicados señalan la poca sensibilidad de la reacción en cadena de la polimerasa en el diagnóstico del derrame pleural; consideramos que una de los procesos que se deben optimizar para mejorar la rentabilidad diagnóstica de esta técnica, es la extracción de DNA. Nuestro trabajo señala diferencias significativas de sensibilidad en función de la técnica empleada. El sistema de columnas de Quiagen con un tratamiento previo de la muestra es el que muestra más sensibilidad, seguido del sistema comercializado por Roche, que aunque presenta menor capacidad de extracción del DNA, es más fácil de realizar aunque más costoso.

140

QUANTIFERON®-TB-GOLD IN TUBE COMO ALTERNATIVA A LA PRUEBA DE LA TUBERCULINA EN EL DIAGNÓSTICO Y MANEJO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA

M.D. López¹, E. Pérez², J. Gutiérrez³, S. de Tena¹, M.I. López², J.C. Alados¹, J.L. de Francisco¹, C. de Miguel¹, M.C. Cárvare² y L. Calbo¹

¹S. Microbiología, Hospital del SAS de Jerez. ²S. Infecciosas, Hospital del SAS de Jerez. ³S. Medicina Preventiva, H.U. Puerta del Mar. Cádiz.

Introducción: La prueba de la tuberculina (PT) se ha utilizado como ayuda en el diagnóstico de la infección tuberculosa (ITB) pese a sus limitaciones, debido a la baja sensibilidad y especificidad. Se han desarrollado técnicas basadas en la cuantificación in vitro de la respuesta inmunitaria celular mediante la determinación de interferón-gamma (IFN- γ) por las células T sensibilizadas. QuantiFERON®-TB-Gold In Tube (QFN-G) es un test que utiliza antígenos específicos (ESAT-6 Y CFP-10) de estimulación mejorando la sensibilidad y especificidad. Presenta una buena correlación con la PT, perfilándose como una buena alternativa.

Nuestros objetivos fueron medir la concordancia de los resultados de la PT y QFN-G y establecer la indicación correcta del tratamiento de la ITB Latente (TIT) según los resultados de la técnica.

Material y métodos: Analizamos los resultados de ambas pruebas en 149 pacientes con riesgo de infección TB diferenciados en 2 grupos: 83 contactos con enfermos TB (mayor o menor a 6 horas/día) y 66 pacientes pertenecientes a grupos de riesgo (residentes en instituciones cerradas, sanitarios, toxicómanos e inmigrantes).

Se determinó la producción de IFN- γ en sobrenadante de sangre total mediante EIA por la técnica de QFN-G (Celles-tis, Australia) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Se siguieron los criterios de SEPAR para la interpretación de la PT y para las indicaciones terapéuticas y las recomendaciones del CDC para el uso de QF.

Para el análisis de la concordancia se utilizó el índice Kappa con precisión de la estimación mediante intervalo de confianza del 95%.

Resultados: El 63% de los pacientes estaban vacunados con BCG. En los contactos no vacunados se obtuvo una buena concordancia entre ambas pruebas. En vacunados se observó discordancia siempre a expensas de una PT positiva con QFN-G negativo. En el grupo de riesgo sólo se obtuvo concordancia en individuos vacunados en los que la PT resultó > 15 mm.

Aplicación clínica: En pacientes con PT positiva susceptibles de TIT la indicación se suprimió en el 50%. En pacientes con

PT positiva no candidatos a TIT se asumió la indicación en un 20%.

Conclusiones: 1. En vacunados, el QFN-G presenta una menor interferencia en los resultados que la PT. 2. La utilización de esta técnica permite seleccionar mejor a los candidatos a TIT. 3. La técnica presenta claras ventajas para el paciente: rapidez en los resultados, objetividad en la interpretación, evita la doble visita de lectura y mejora la confidencialidad.

141

DIAGNÓSTICO DE INFECCIÓN TUBERCULOSA EN PACIENTES CANDIDATOS A TRATAMIENTO ANTI-TNF α : PRUEBA DE LA TUBERCULINA VERSUS DETECCIÓN EN SANGRE DE INTERFERÓN-GAMMA

S. Casas¹, X. Juanola², X. Borda³, A. Andreu⁴, R. Moure⁴, F. Alcaide⁴, L. Aníbarro⁵, E. Cuchi⁶, X. Surís¹⁰, G. Salvador⁷, M. Esteve⁸, V. Ortiz¹⁰, X. Martínez-Lacasa⁹, C. Martí¹¹, J. Cuquet¹², R. Guerrero¹ y M. Santín¹

¹Unidad de Tuberculosis, Servicio de Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitari de Bellvitge, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. ²Servicio de Reumatología, Hospital Universitari de Bellvitge, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. ³Servicio de Dermatología, Hospital Universitari de Bellvitge, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona.

⁴Servicio de Microbiología, Hospital Universitari de Bellvitge, IDIBELL, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona. ⁵Unidad de Tuberculosis, Servicio de Medicina Interna, Complejo Hospitalario de Pontevedra, Pontevedra. ⁶Servicio de Microbiología, Hospital Mutua de Terrassa, Terrassa, Barcelona.

⁷Servicio de Reumatología, Hospital Mutua de Terrassa, Terrassa, Barcelona. ⁸Servicio de Gastroenterología, Hospital Mutua de Terrassa, Terrassa, Barcelona. ⁹Servicio de Medicina Interna, Hospital Mutua de Terrassa, Terrassa, Barcelona.

¹⁰Servicio de Reumatología, ¹¹Servicio de Microbiología,

¹²Servicio de Medicina Interna, Fundació Hospital-Asil de Granollers, Granollers, Barcelona.

Objetivos: Comparar la prueba de la tuberculina (PT) con una prueba de detección en sangre de gamma-interferón (IFN-g) para el diagnóstico de infección tuberculosa (ITB) en pacientes con enfermedades inflamatorias previo al inicio de tratamiento con agentes anti-factor de necrosis tumoral alfa (TNF α).

Métodos: Estudio multicéntrico, prospectivo, transversal, de pacientes candidatos a terapia anti-TNF α valorados en 4 hospitalares españoles, desde octubre de 2006 a Octubre del 2007. El diagnóstico de ITB se basó en la historia previa de ITB, la radiografía de tórax, la PT en 2 pasos (primera PT y "booster") y la detección en sangre de IFN-g mediante la prueba de QuantiFERON® TB Gold-in Tube (QFT). Se consideró la PT positiva si la induración \geq 5 mm. Siguiendo las guías del laboratorio, se consideró el QFT positivo cuando la producción de IFN-g en la muestra con antígenos de TB menos el control negativo \geq 0,35 UI/mL; se consideró indeterminado cuando la producción de IFN-g en el control positivo era \leq 0,5 UI/mL o cuando era $>$ 8 UI/mL en el control negativo. La concordancia entre la PT y el QFT se calculó mediante el índice kappa de Cohen (k).

Resultados: Se valoraron 155 pacientes, 80 (52%) mujeres, media de edad 49 a. 12 (8%) eran inmigrantes. 69 (45%) presentaban artritis reumatoide, 32 (21%) psoriasis cutánea, 28 (18%) espondiloartropatía, 14 (9%) artritis psoriásica, 11 (7%) enfermedad inflamatoria intestinal y 1 (1%) enfermedad de Behcet. 110 (71%) estaban recibiendo tratamiento inmunosupresor, principalmente corticoides (40%). 34 (22%) habían recibido vacunación con BCG, 5 (3%) tenían historia previa de ITB y 8 (5%) tenían la radiografía de tórax patológica. La PT fue positiva en 48 (31%) (31 en la 1^a PT y 17 en la 2^a) y 35 (23%) un QFT positivo ($p < 0,01$). De los 23 pacientes con algún factor de riesgo de ITB, un 65% tuvieron la PT positiva, frente a un 39% el QFT ($p = 0,007$). Una vez excluidos los pacientes con BCG, esta diferencia no fue signifi-

cativa (70% vs. 44%, $p = 0,09$). La concordancia entre las 2 pruebas fue del 81% ($k = 0,52$, IC95% IC 0,45-0,6), y no se vio influida por el tratamiento de base (81% vs 79%; $p = 0,8$) ni la vacuna BCG (73% vs 83%, $p = 0,2$). La concordancia en los pacientes con alguna de las 2 pruebas positivas fue del 48%. En los pacientes bajo tratamiento con corticoides, la proporción de resultados positivos con el QFT es mayor que con la PT en 2 tiempos (29% vs 25%, $p < 0,001$). Hubo 5 (3%) resultados indeterminados con el QFT en relación a una baja producción de IFN-g en el control positivo.

Conclusiones: La concordancia global entre la PT y el QFT es moderada, pero es baja en el grupo que presenta alguna de las 2 pruebas positivas, lo cual limitaría el uso de QFT como único método de diagnóstico de ITB en esta población. El resultado del QFT se ve menos influido por el uso de corticoides que la PT. La tasa de resultados indeterminados es baja.

142

ANÁLISIS DE LAS MANIFESTACIONES CLÍNICAS Y DE LA DEMORA DIAGNÓSTICA TOTAL (DDT) EN EL PACIENTE TUBERCULOSO

M. Moreno, M. Alonso, J.A. Mirón, H. Iglesias y M.C. Sáenz

Departamento de Medicina Preventiva, Salud Pública y Microbiología Médica. Hospital Clínico Universitario, Salamanca.

Introducción: El retraso diagnóstico es uno de los factores que dificulta el control de la tuberculosis (TB). En los países desarrollados, la falsa creencia de que se trata de una enfermedad del pasado, supone, en muchos casos, que el paciente, ante síntomas inespecíficos, tarde en acudir al médico, y que éste tenga un bajo índice de sospecha.

El **objetivo general** fue conocer las manifestaciones clínicas más frecuentemente asociadas a TB y estimar la DDT en esta patología.

Material y métodos: Estudio descriptivo longitudinal, basado en la revisión de historias clínicas de una cohorte de pacientes de la Atención Especializada del Área de Salud de Salamanca, con diagnóstico de TB e inicio de tratamiento específico entre 1-Enero-2000 y 31-Diciembre-2004. Los casos de TB fueron seleccionados según los criterios de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE). Se definió DDT como el tiempo transcurrido desde el inicio de los síntomas hasta el comienzo del tratamiento; se excluyeron los pacientes asintomáticos y aquellos sin fecha de inicio de síntomas; no se pudo distinguir entre demora atribuible al enfermo (DE) y demora imputable al sistema sanitario (DSS) por disponer únicamente de información hospitalaria.

Resultados: El 45,5% de los pacientes analizados presentaron con expectoración; las formas mucopurulentas fueron el tipo más frecuente, en el 54,1%. En el 91,3% de los enfermos se confirmó la presencia de otros signos y síntomas; los más habituales fueron los síntomas generales, que en un 63,5% aparecieron como único cuadro clínico, en un 5,6% asociados a adenopatías y en un 30,9%, a otros síntomas. El análisis conjunto de las manifestaciones clínicas evidenció que sólo en un 6,5% de casos el paciente no presentó ninguna sintomatología. El cálculo de la DDT estimó una mediana de 43 días, un 50% central de pacientes con retraso diagnóstico entre 23 y 91 días, y extremos en 1 y 1833 días. En el 30,8% de los casos la DDT fue inferior a un mes, en el 43,3% se situó entre 1 y 3 meses, y en el 25,8%, por encima. En pacientes con infección por el VIH, la mediana disminuyó hasta 37 días, mientras que en VIH negativos fue de 45 días, aunque sin diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Conclusiones: La DDT en TB es elevada, sobre todo si tenemos en cuenta el carácter contagioso de algunos enfermos. Para reducir estas cifras, sería recomendable educar sanitariamente a los pacientes y que los profesionales sanitarios sigan pensando en la TB ante determinados sínto-

mas, algo que es posible mediante una formación continua-
da adecuada.

143

LA COMPOSICIÓN CLONAL DE LA POBLACIÓN DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* PRESENTE EN MUESTRAS CLÍNICAS PUEDE MODIFICARSE POR EL CULTIVO

A. Martín, M. Herranz, M.J. Ruiz-Serrano, E. Bouza y D. García de Viedma

Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Hospital General Universitario Gregorio Marañón, CIBER Enfermedades Respiratorias (CIBER-RES).

Introducción: La aplicación de las técnicas de genotipado al análisis de aislados clínicos de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) ha revelado que la infección por este patógeno presenta una complejidad clonal mayor que la asumida inicialmente. De este modo se han identificado con cierta frecuencia fenómenos de reinfección, infección múltiple y microevolución. Los estudios genotípicos se realizan a partir de aislados cultivados, puesto que se asume que éstos son un reflejo fiel de la composición clonal de los bacilos presentes en la muestra clínica. Sin embargo, es posible que el cultivo pudiera modificar la composición clonal inicial.

Objetivo: Analizar si el cultivo puede modificar la composición clonal de la población de *M. tuberculosis* presente en la muestra clínica.

Material y métodos: Se realizaron combinaciones in vitro de 7 parejas de cepas de MTB en 5 proporciones diferentes (90/10, 10/90, 95/5, 5/95, 50/50) y se cultivaron durante 3 semanas en Lowenstein-Jensen. Se extrajo el DNA de cada una de las mezclas antes y después del cultivo y se genotipó por MIRU-VNTR. Los productos de amplificación se analizaron por electroforesis tanto en gel de agarosa como capilar para determinar, en las distintas parejas, la proporción de cada una de las cepas. Adicionalmente, se siguió una estrategia equivalente combinando esputos bacilíferos en parejas y genotipando 30 colonias aisladas obtenidas a partir de la mezcla y tras su cultivo en medio líquido.

Resultados: En el ensayo de combinación in vitro de cepas, se detectaron cambios marcados en las proporciones de 4/7 parejas tras su cultivo, llegando en un caso a desaparecer una de las cepas de la pareja. En el ensayo de combinación de esputos, en una pareja se identificaron diferencias en la proporción de las cepas antes (2/1) y después del cultivo (1/26).

Conclusiones: El cultivo de distintas combinaciones in vitro de cepas y esputos modificó frecuentemente las proporciones iniciales de las cepas.

Es posible que la complejidad clonal identificada al trabajar sobre aislados clínicos cultivados infravalore la existente en las muestras clínicas.

Financiación: FIS: 060882; 061467; 0690357; CB06/06/0058; Ana Martín es receptora de una beca FPI de la Comunidad de Madrid cofinanciada por el Fondo Social Europeo (Orden 5297/2006).

144

SIGNIFICACIÓN CLÍNICA DEL AISLAMIENTO DE MICOBACTERIAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO EN PACIENTES ADULTOS

Z. Vázquez¹, A. Fernández¹, A. Andreu¹, R. Moure¹, R. Martín¹, M. Santín² y F. Alcaide¹

¹Servicio de Microbiología y ²Servicio de Enfermedades Infecciosas. Hospital Universitario de Bellvitge-IDIBELL. REIPI. Barcelona.

Introducción: El aislamiento clínico de las micobacterias de crecimiento rápido (MCR) ha aumentado en los últimos

años. Estos microorganismos pueden causar diversas infecciones, tanto en pacientes sanos como inmunodeprimidos.

Objetivos: 1) Conocer la frecuencia y patogenicidad de los aislamientos clínicos de MCR en pacientes adultos; 2) Estudiar las características clínicas y microbiológicas de estas infecciones.

Materiales y métodos: Estudio retrospectivo de 15 años (1993-2007) de todos los pacientes con algún aislamiento de MCR en el Hospital Universitari de Bellvitge. 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 (2007) para los aislamientos respiratorios. En los demás casos, se denominó como infección definitiva cuando existió clínica compatible con infección, aislamiento puro de la micobacteria y ausencia de otra etiología plausible.

Resultados: Un total de 48 casos fueron identificados en el periodo de estudio. De ellos, 10 fueron excluidos: 7 sin datos disponibles y 3 de significado clínico incierto. De los 38 casos analizados, la media de edad fue de 59,3 años y el 76,3% fueron varones. Las 5 especies identificadas fueron: *M. fortuitum* (n = 20), *M. cheloneae* (n = 14), *M. mucogenicum* (n = 2), *M. abscessus* (n = 1) y *M. peregrinum* (n = 1). En el 94,7% (n = 36) de los pacientes se detectó algún factor predisponente y en el 34,2% (n = 13) tuvieron infección definitiva por MCR. No se detectaron diferencias significativas entre los casos con y sin enfermedad respecto a la edad (61,1 vs 58,4 años), sexo (61,5% vs 84% de varones) y especie aislada (53,8% vs 52% de *M. fortuitum*). En 33 (86,8%) casos el origen de las MCR fue respiratorio, siendo mayor en los pacientes sin infección definitiva (96% vs 69,2%). De los 5 aislamientos extrapulmonares, 4 fueron patógenos. El tratamiento de la enfermedad por MCR fue farmacológico en 11 casos, requiriendo cirugía 3 de ellos y un caso fue exclusivamente quirúrgico. La claritromicina fue el fármaco más utilizado (n = 9) solo o en combinación (n = 7), sobre todo con aminoglucósidos (n = 5) y fluoroquinolonas (n = 5).

Conclusiones: Las MCR son un aislamiento relativamente frecuente, especialmente *M. fortuitum*, seguido de *M. cheloneae*. Aunque estas micobacterias son microorganismos ambientales, pueden ser patógenas hasta en un tercio de los casos, especialmente en los aislamientos extrapulmonares.

145

UTILIDAD DE GENOTYPE MTBDRPLUS PARA IDENTIFICAR *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* RESISTENTE A RIFAMPICINA E ISONIACIDA EN CEPAS Y MUESTRAS CLÍNICAS

A. Lacoma^{1,2}, N. García^{1,2}, J. Ruiz-Manzano^{1,3,4}, C. Prat^{1,2,4}, L. Haba^{1,2}, L. Fuenzalida^{1,2}, J. Maldonado⁵ y J. Domínguez^{1,2,4}

¹Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Fundació Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol. Universitat Autònoma de Barcelona. Badalona. ²Servei de Microbiologia. ³Servei de Pneumologia. ⁴Ciber Enfermedades Respiratorias. Instituto de Salud Carlos III. ⁵Serveis Clínics de Barcelona.

Objetivos: 1. Evaluar la utilidad de MTBDRplus para detectar las mutaciones más frecuentes en los genes *rpoB*, *katG* y *inhA* en cepas clínicas de *M. tuberculosis*. 2. Determinar su utilidad para detectar *M. tuberculosis* resistente a RIF e INH directamente en muestra clínica.

Material y métodos: Se incluyeron 62 cepas clínicas caracterizadas por BACTEC 460TB (14 RIF^s/INH^s, 36 RIF^r/INH^r y 12 RIF^r/INH^r) y secuenciación. De las cepas INH^r también se determinó la CMI. Se incluyeron además 65 muestras clínicas, 39 de las cuales tenían baciloscopia positiva y 26 negativa. Procedían de 28 pacientes y las correspondientes cepas clínicas también se estudiaron por BACTEC 460TB (31 RIF^s/INH^s, 5 RIF^r/INH^r and 29 RIF^r/INH^r). GenoType MTBDRplus (HainLifeScience, Nehren, Germany) combina la amplificación de material genético de *M. tuberculosis* con

una técnica de hibridación inversa en tiras de nitrocelulosa que permite conocer el patrón de susceptibilidad a rifampicina (RIF) e isoniacida (INH).

Resultados: En el caso de las cepas clínicas, las concordancias globales entre MTBDRplus y BACTEC 460TB para detectar la susceptibilidad a RIF e INH fueron 98,3% (61/62) y 79% (49/62) respectivamente. La especificidad del test para detectar ambas resistencias fue del 100% y la sensibilidad del 91,7% (11/12) para RIF y del 73% (35/48) para INH. De entre las 14 cepas resistentes por BACTEC 460TB con resultado discordante para MTBDRplus, en sólo 3 casos la secuenciación reveló mutaciones que tendrían que haber sido detectadas por MTBDRplus. En las cepas con CMI ≥ 1 $\mu\text{g/ml}$ la sensibilidad para detectar resistencia a INH fue del 85,7%. En este grupo la mutación más frecuente fue la S315T en el katG, incluida en el test. Mientras que para las cepas con CMI ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ la sensibilidad fue del 62,9%. Las cepas con bajo nivel de resistencia presentaron con más frecuencia mutaciones no incluidas en el test.

Por lo que respecta a las muestras clínicas directas, se obtuvieron resultados válidos en 51/65 (78,4%) casos. La concordancia entre las dos técnicas para detectar susceptibilidad en estas cepas fue del 98% (50/51) para la RIF y 96,2% (49/51) para la INH. Las 14 muestras con resultado inválido tenían baciloscopía negativa.

Conclusiones: El test MTBDRplus representa una herramienta útil y práctica para el manejo de la tuberculosis, ya que permite conocer el patrón de susceptibilidad a RIF e INH de *M. tuberculosis* en cepa y muestra clínica identificando las mutaciones más frecuentes asociadas a estas resistencias.

146

UTILIDAD DE LA DETECCIÓN DE LA SÍNTESIS DE INTERFERÓN-GAMMA POR CÉLULAS T SENSIBILIZADAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA EN PACIENTES INFECTADOS POR VIH

I. Latorre^{1,2,5,6}, M. De Souza-Galvão^{5,7}, J. Ruiz-Manzano^{1,3,5,6}, C. Prat^{1,2,5,6}, A. Lacoma^{1,2,5}, J. Maldonado⁸, S. Roses^{1,2,5}, N. Altet, R. Muga^{1,4,5} y J. Domínguez^{1,2,5,6}

¹Hospital Universitari “Germans Trias i Pujol”. Fundació Institut en Ciències de la Salut “Germans Trias i Pujol”. ²Servei de Microbiologia. ³Servei de Pneumología. ⁴Servei de Medicina Interna. ⁵Universitat Autònoma de Barcelona. ⁶CiberEnfermedades Respiratorias. Instituto de Salud Carlos III.

⁷Unidad de Prevención y Control de la Tuberculosis de Barcelona. ⁸Serveis Clínics de Barcelona.

Objetivos: Determinar la utilidad de las técnicas in vitro basadas en la detección de IFN-gamma en el diagnóstico de la infección tuberculosa en pacientes VIH positivos, comparando los resultados con la prueba de la tuberculina.

Material y métodos: Se estudiaron por Quantiferon-TB GOLD In Tube, T-SPOT.TB y la prueba de la tuberculina 35 pacientes infectados por VIH, 3 de ellos con un número de células CD4 inferior a 250 (cel/ μl). En once casos los pacientes presentaban cicatriz de vacunación con BCG. Alícuotas de sangre total y de células monocíticas extraídas de sangre periférica, respectivamente, fueron estimuladas con los antígenos específicos de *M. tuberculosis* ESAT-6 y CFP-10. La síntesis de IFN-gamma por las células T sensibilizadas se determinó en los sobrenadantes de sangre total mediante ELISA por la técnica del Quantiferon-TB GOLD In Tube en células mononucleares mediante ELISPOT por la técnica de T-SPOT.TB.

Resultados: T-SPOT.TB y Quantiferon-TB GOLD In Tube fueron positivos en el 25,7% (9/35) y el 31,4% (11/35) de los casos, respectivamente, en cambio, la prueba de la tuberculina fue positiva (> 5 mm) en el 48,6% (17/35). Las diferencias entre las dos técnicas in vitro no fueron signifi-

cativas ($P = 0,688$). La concordancia global entre T-SPOT.TB y Quantiferon-TB GOLD In Tube fue de 82,8% ($\kappa = 0,582$), mientras que las concordancias globales del T-SPOT.TB y Quantiferon-TB GOLD In Tube con la tuberculina fueron de 73% ($\kappa = 0,436$) y 81,1% ($\kappa = 0,611$) respectivamente. En los pacientes con número de células CD4 inferior a 250 (cel/ μl) se observó una concordancia de 100% con la prueba de la tuberculina. No se obtuvo en ningún caso ningún resultado indeterminado por ninguna de las dos técnicas in vitro. Si analizamos los resultados en los pacientes no vacunados, T-SPOT.TB fue positivo en 15,8% (3/19), Quantiferon-TB GOLD In Tube en 31,6% (6/19) y la tuberculina en 36,8% (7/19). El único paciente con menos de 250 cél/ μl no vacunado fue negativo por las tres técnicas.

Conclusiones: 1) Aunque el número de pacientes es limitado y los resultados aún son preliminares, T-SPOT.TB presenta un menor número de resultados positivos en el diagnóstico de la infección tuberculosa en pacientes VIH que el Quantiferon-TB GOLD In Tube y la tuberculina. 2) Quantiferon-TB GOLD In Tube muestra mayor concordancia con la prueba de la tuberculina que T-SPOT.TB. 3) No detectamos resultados indeterminados en ninguno de los pacientes estudiados.

147

CONCORDANCIA Y DISCORDANCIA DE LAS TÉCNICAS DE INTERFERÓN-GAMMA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA INFECCIÓN TUBERCULOSA EN NIÑOS

I. Latorre^{2,3,5,6}, J. Domínguez^{2,3,5,6}, M.L. De Souza-Galvão^{1,5}, C. Milà¹, M.A. Jiménez-Fuentes¹, E. Lara¹, J. Ruiz Manzano^{2,4,5,6}, P. Lozano¹, C. Mata¹, R. Cabús¹ y M.N. Altet¹

¹Unidad de Prevención y Control de la Tuberculosis de Barcelona. SAP de suport al Diagnòstic i Tractaments. CAP Drassanes, ICS. ²Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Fundació Institut en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol.

³Servicio de Microbiología. ⁴Servicio de Pneumología.

⁵Universidad Autónoma de Barcelona. ⁶Ciber de Respiratorio. Instituto de Salud Carlos III.

Objetivos: Evaluar las dos técnicas para el diagnóstico in vitro de la infección tuberculosa mediante la determinación de la síntesis de interferón-gamma por las células T sensibilizadas (Quantiferon-TB-GOLD in tube [®] y T-SPOT.TB [®]).

Metodología: Se investigaron 166 niños a los que se practicó prueba de tuberculina mediante técnica de Mantoux según directrices de la OMS; el dintel de positividad se estableció en 5 mm de induración en los contactos de casos de tuberculosis y 10 mm en los niños procedentes de cribado tuberculínico. Se realizó extracción sanguínea y células mononucleares de sangre periférica, se estimularon con los antígenos específicos de *Mycobacterium tuberculosis* ESAT-6 y CFP10 mediante T-SPOT.TB [®] y Quantiferon-TB-GOLD in tube [®]. Se comparan los resultados de ambas pruebas.

Resultados: Ambas técnicas concuerdan en 147/166 niños (88,6%) en los que se obtuvo el resultado de ambas pruebas, con un coeficiente (κ) del 0,803. No se demostró significación estadística en el análisis bivariante de las variables que pueden influir en la concordancia entre ambas. Sin embargo, existe una correlación positiva entre el nº de células y la cantidad de IFN- γ que producen en los niños que tiene concordancia de ambas IGRAs: a más células, más IFN- γ , pero ésta correlación es negativa en los 19 niños con discordancia de ambas técnicas: cuando hay pocas células se produce mucho IFN- γ pero cuando hay muchas células, la cantidad total de IFN- γ disminuye.

Conclusiones: La discordancia de ambas técnicas sugiere trastornos de la inmunidad frente a la infección tuberculosa en los niños, siendo posible que éste grupo sea los que más se beneficiarían del tratamiento de la infección.

148

EFICACIA DE LA RESPUESTA DINÁMICA DE LAS CÉLULAS T SENSIBILIZADAS PRODUCTORAS DE IFN-GAMMA EN LA MONITORIZACIÓN DEL TRATAMIENTO ANTITUBERCULOSO Y UTILIDAD EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS ACTIVA

I. Latorre^{1,2,4,5}, M. De Souza-Galvão^{4,6}, J. Ruiz-Manzano^{1,3,4,5}, C. Prat^{1,2,4,5}, A. Lacomá^{1,2,4}, C. Milà⁶, M.A. Jiménez⁶, S. Blanco^{1,2,4,5}, I. García^{1,3}, S. Roses^{1,2}, M. Pérez^{1,2}, J. Maldonado⁷, N. Altet⁶ y J. Domínguez^{1,2,4,5}

¹Hospital Universitari "Germans Trias i Pujol" Fundació Institut en Ciències de la Salut "Germans Trias i Pujol". ²Servei de Microbiologia. ³Servei de Pneumología. ⁴Universitat Autònoma de Barcelona. ⁵CiberEnfermedades Respiratorias. Instituto de Salud Carlos III. ⁶Unidad de Prevención y Control de la Tuberculosis de Barcelona. ⁷Serveis Clínics de Barcelona.

Objetivos: Determinar la síntesis de interferón-gamma por las células T sensibilizadas en pacientes con tuberculosis (TBC) activa y estudiar la cinética de la respuesta de las células T en la monitorización del tratamiento antituberculoso.

Material y métodos: Un total de 93 pacientes con cultivo positivo para *Mycobacterium tuberculosis* fueron estudiados por las técnicas de QuantiFERON-TB GOLD In Tube (QFT-G-IT) y T-SPOT.TB (TS.TB). Se clasificaron en dos grupos. Grupo 1: 79 pacientes con TBC pulmonar, 10 de ellos se monitorizaron durante el tratamiento antituberculoso: en el momento del diagnóstico, entre el primer y el tercer mes de tratamiento, y entre el tercer mes y el final de la terapia antituberculosa. Grupo 2: 14 pacientes con TBC extrapulmonar. La síntesis de IFN-gamma por las células T sensibilizadas se determinó en los sobrenadantes de sangre total mediante ELISA por la técnica del QFT-G-IT y en células mononucleares mediante ELISPOT por la técnica de TS.TB.

Resultados: En pacientes con TBC pulmonar que aún no habían iniciado el tratamiento el TS.TB fue positivo en 30/36 (83,3%), mientras que por QFT-G-IT en 25/36 (69,4%). En cambio, durante el tratamiento, el TS.TB fue solo positivo en 30/43 (69,8%) y el QFT-G-IT en 21/43 (48,8%). En los pacientes con TBC extrapulmonar antes de iniciar el tratamiento, el TS.TB y el QFT-G-IT fueron positivos en 2/2 (100%) y durante el tratamiento en 5/12 (41,7%) respectivamente. En los diez pacientes monitorizados al inicio y durante el tratamiento antituberculoso, los resultados mostraron una variación inter-individual en la cinética de la respuesta de las células T mediante la determinación de la síntesis de interferón-gamma. Aunque las diferencias no fueron significativas, el número de células T específicas y la cantidad de IFN-gamma liberado, aumenta una vez finalizado el tratamiento.

Conclusiones: 1. TS.TB muestra mayor sensibilidad que QFT-G-IT en la detección de IFN-gamma en pacientes con TBC activa. 2. Durante el tratamiento antituberculoso se reduce la respuesta de las células T sensibilizadas. 3. La cinética de la respuesta de las células T es variable entre los diferentes pacientes monitorizados durante el tratamiento. 4. Las técnicas basadas en la detección de IFN-gamma pueden utilizarse de forma complementaria en el diagnóstico de la TBC activa, aunque hasta el momento, no pueden ser utilizadas como herramienta en la monitorización del tratamiento.

149

MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS RESISTENTES EN LOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE TUBERCULOSIS PULMONAR EN LA PROVINCIA DE TOLEDO

A. Blanco¹, V. Cano², J. González¹, M.A. Díaz², M. Salas², R. Labra², E. Sánchez², P. Toledano², T. Nuñez² y A. Tutor²

^{1,2}Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario de Toledo. ¹Hospital Tres Culturas. ²Hospital Virgen de la Salud.

La tuberculosis es una enfermedad infecciocontagiosa, causada por *Mycobacterium tuberculosis*. A pesar de ser una en-

fermedad curable, prevenible y controlable, dista mucho de ser erradicada. En 2005, la OMS informaba que la tuberculosis continuaba aumentando en todo el mundo a razón de un 1% anual. Actualmente se ha documentado la existencia de cepas resistentes a algún fármaco en todos los países estudiados y, lo que es más significativo, ya se conocen cepas del bacilo resistentes a todos los antituberculosos principales. En la actualidad la tuberculosis constituye la causa de muerte más frecuente por agente infeccioso y se considera un problema de salud pública de primera magnitud.

Objetivos: Conocer la prevalencia cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis* en los pacientes diagnosticados de tuberculosis pulmonar en la provincia de Toledo, determinar la influencia de la inmigración en la aparición de resistencias, e investigar los factores de riesgo en cada uno de los casos.

Material y método: Estudio retrospectivo a partir de los casos de tuberculosis pulmonar con cultivo positivo diagnosticados en la provincia de Toledo entre enero de 2004 y diciembre de 2007.

Resultados: Se identificaron 123 casos de tuberculosis pulmonar, 90 españoles y 33 extranjeros. Se ha detectado una tasa total de resistencia a fármacos de primera línea del 14,6%. El 22,2% de las cepas con resistencia la tenían a 1 sólo fármaco; el 77,8% de las cepas tenían resistencia a 2 o más fármacos. Con relación a los casos de tuberculosis pulmonar en pacientes extranjeros, el 24,2% de las cepas presentaban resistencia a fármacos de primera línea, de las cuales: el 12,5% eran resistentes a 1 sólo fármaco, y el 87,5% de las cepas eran resistentes a 2 o más fármacos. Con relación a los casos de tuberculosis pulmonar en pacientes no extranjeros, el 11,1% de las cepas presentaban resistencia a fármacos de primera línea, de las cuales: el 30% de las cepas eran resistentes a 1 sólo fármaco, y el 70% de las cepas eran resistentes a 2 o más fármacos.

Conclusiones: En los tres últimos años se constata un incremento de los casos de tuberculosis pulmonar en la provincia de Toledo, así como un incremento de cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a fármacos de primera línea. Llama también la atención la alta tasa de cepas resistentes a fármacos de primera línea en el subgrupo de extranjeros (1 de cada 4).

150

ALGORITMO PARA LA IDENTIFICACIÓN DE MICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS EN UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

Ó. Esparcia^{1,2}, M. Español¹, C. Moreno¹, M. Garrigó^{1,2} y P. Coll^{1,2}

¹Servei de Microbiologia, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. ²Departament de Genètica i Microbiologia, Universitat Autònoma de Barcelona.

Objetivo: Describir el algoritmo de identificación de micobacterias no tuberculosas (MNT) aisladas en nuestro laboratorio durante el periodo 2002 – 2006.

Material y métodos: A partir de los medios de aislamiento se estudió la velocidad de crecimiento, producción de pigmento, crecimiento a distintas temperaturas y morfología microscópica. La identificación de *M. avium* complex (MAC), *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasi* y *M. gordona* se realizó mediante hibridación con sondas AccuProbe (Gen-Probe, San Diego, CA). En aquellos aislados con resultado negativo para las sondas se procedió a realizar el análisis del patrón de restricción de un fragmento del gen *hsp65* (PRA *hsp65*). Los patrones obtenidos fueron comparados con aquellos descritos en el último algoritmo publicado (Brunello F. et al. J Clin Microbiol 2001). En caso de no obtener un patrón descrito se procedió a la secuenciación parcial del 16S rDNA. En aquellos casos en los que no se pudo llegar a la identificación de especie con esta última técnica y en los que el patrón obtenido era nuevo se procedió a la secuenciación parcial de *hsp65*.

Resultados: Durante el período estudiado se recuperaron 236 MNT. Fenotípicamente, 188 (79,6%) cepas correspondieron a crecedores lentos y 48 (20,4%) a crecedores rápidos. Un total de 102 (43,2%) aislados fueron identificados mediante sondas AccuProbe. En 39 aislados se obtuvo un resultado positivo con la sonda de MAC (23 *M. avium*, 9 *M. intracellulare*, y 7 aislados no hibridaron con las sondas específicas de *M. avium* y *M. intracellulare*). En los restantes 134 aislados se realizó el PRA hsp65 lo que permitió la identificación de 76 (56,7%). El patrón específico de *M. xenopi* fue el más frecuentemente encontrado (n = 35). En las 58 cepas restantes se procedió a la secuenciación del 16S rDNA, lo que permitió la identificación de 53 (91,3%) cepas, siendo *M. parascrofulaceum* (n = 20) la más frecuentemente encontrada. Cinco cepas no pudieron ser identificadas con esta técnica pero la secuenciación parcial de hsp65 si permitió identificar una de estas cinco (*M. mucogenicum*). En cuatro cepas (1,6%) no se logró la identificación de especie. En este trabajo se describen tres nuevos patrones de PRA hsp65 (*M. alvei*, *M. mageritense* y *M. terrae*).

Conclusiones: Nuestro algoritmo permitió la identificación de 232 MNT (98,3%). La hibridación con sondas AccuProbe permitió la identificación de casi la mitad de MNT aisladas. El último algoritmo publicado para la interpretación del PRA hsp65 necesita ser actualizado.

151

CARACTERÍSTICAS CLÍNICO EPIDEMIOLÓGICAS DE LA TUBERCULOSIS EN EL ÁREA SANITARIA DE TOLEDO EN LOS AÑOS 1997-2007

E. Heredero, P. Zamarrón, C. Gómez, V. Martino, J.A. Rodríguez y S. Brea

Servicio de Microbiología, Hospital Virgen de la Salud. Complejo Hospitalario de Toledo.

Introducción: La tuberculosis constituye un importante problema sanitario que en los últimos años se ha visto incrementado debido a diferentes factores, como el VIH o la inmigración. Esta enfermedad puede aparecer en cualquier localización. A pesar de que la forma de presentación más común es la pulmonar, la afectación extrapulmonar constituye también un importante problema clínico.

Objetivos: Analizar las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes diagnosticados de Tuberculosis en el área sanitaria de Toledo durante el período 1997-2007, sus principales factores de riesgo y formas de presentación.

Material y métodos: Estudio descriptivo retrospectivo de 350 pacientes diagnosticados de Tuberculosis durante el período 1997-2007 en el área sanitaria de Toledo. Se estudian todos los pacientes en los que se obtuvo cultivo positivo para *Mycobacterium tuberculosis*. Las muestras fueron procesadas para cultivo en medio líquido MGITT-BD. El análisis estadístico se realizó mediante el Test de Chi cuadrado. El nivel de significación estadística fue $p < 0,05$.

Resultados: De los 350 pacientes, 251 fueron hombres (71,7%). La edad media fue de 49,3 años (mediana: 43; rango intercuartílico: 32-68). Un 18,6% de los pacientes fueron inmigrantes. El VIH fue positivo en 29 pacientes (8,3%). El mantoux se realizó en 134 casos, de los cuales en 73 (20,9%) resultó positivo.

Se recogieron datos de la historia clínica de 174 pacientes, de los cuales un 63,2% tenían factores de riesgo que fueron los siguientes: etilismo crónico 64 (36,4%), tuberculosis previa 32 (18,2%), EPOC 15 (8,5%), contacto con un caso de TBC 9 (5,1%), inmunosupresión 8 (4,5%), drogadicción 7 (4%), estancia en instituciones penitenciarias 6 (3,4%).

Las localizaciones encontradas por orden de frecuencia fueron: Pulmonar 260 (74,3%), Ganglionar 26 (7,4%), Pleural 19 (5,4%), Genitourinario 14 (4%), Osteoarticular 9 (2,6%), SNC 7 (2%), Peritoneal 6 (1,7%), Partes blandas 5 (1,4%), Diseminada 3 (0,9%). El Ziehl fue positivo en 156 casos (44,6%), variando en función de la localización: pulmonar (58,9%), diseminada

(33,3%), osteoarticular (22,2%), genitourinaria (21,4%), ganglionar (20,8%), SNC (20%), pleural (10,5%), ($p = 0,00$).

Conclusiones: Más de la mitad de los pacientes presentaron factores de riesgo para el desarrollo de tuberculosis. Los más importantes fueron el etilismo crónico y haber tenido una tuberculosis en el pasado. El Ziehl positivo fue más frecuente en la TBC pulmonar.

En nuestra serie, la localización extrapulmonar más frecuente es la ganglionar, seguida de la pleural, genitourinaria y osteoarticular.

152

FRECUENCIA DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE ESPECIES DEL GÉNERO *MYCOBACTERIUM* EN EL ÁREA DE INFLUENCIA DEL DEPARTAMENTO DE SALUD 5 DE LA COMUNIDAD VALENCIANA

R. Guna¹, M.R. Navarro², R. Igual³, D. González-Granda⁴, J. Prat⁵, A. Garay⁶, Mallea⁶, O. Fraile⁶, T. García-Lozano⁶ y R. Borrás^{6,7}

¹Unidad de Microbiología Hospital General Universitario, Valencia. ²Laboratorios de Microbiología, Hospital Vega Baja, Orihuela, Alicante. ³Laboratorios de Microbiología, Hospital San Francesc de Borja, Gandia, Valencia. ⁴Laboratorios de Microbiología Hospital Lluís Alcanyis, Xàtiva, Valencia.

⁵Laboratorios de Microbiología, Hospital de Sagunto, Sagunto, Valencia. ⁶Servicio de Microbiología, Hospital Clínico Universitario, Valencia. ⁷Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina y Odontología, Valencia.

Objetivo: Con la finalidad de conocer la frecuencia y distribución de las especies del género *Mycobacterium* identificadas en el Hospital de referencia del Departamento de Salud 5 de la Comunidad Valenciana, se ha realizado un estudio retrospectivo de los resultados obtenidos en el período comprendido entre Enero de 2000 y Diciembre de 2007.

Material y métodos: Durante el período de estudio fueron remitidos 448 aislados obtenidos de 302 pacientes de los Departamentos de Salud 4, 14 y 21, y fueron obtenidos en cultivo 2.721 aislados a partir de 44.424 muestras clínicas (6,1%) de 1.241 pacientes de los Departamentos de Salud 5, 9 y 12. Las muestras previa descontaminación y concentración por el método de Kubica (N-acetil-cisteína + NaOH), fueron inoculadas en medio de Löwenstein-Jensen con y sin piruvato y en MGIT, y los medios de cultivo fueron incubados a 37°C en atmósfera convencional y en el Sistema BACTEC MGIT 960 durante 60 y 45 días, respectivamente. La identificación de los aislados se realizó mediante métodos convencionales y moleculares (Gen Probe, bioMérieux; INNO-LiPA Mycobacteria, Innogenetics; Genotype MTBC, Hain Lifescience; secuenciación).

Resultados: Los 1.543 aislados estudiados fueron identificados como pertenecientes a 22 especies diferentes. La proporción de *M. tuberculosis complex* frente a las micobacterias atípicas fue de 2,8:1. Las especies más prevalentes fueron *M. tuberculosis complex* con 1.139 casos (73,8%), *M. gordonae* (104; 6,7%), *M. kansasii* (97; 6,3%), *M. avium complex* (86; 5,6%), *M. fortuitum* (66; 4,3%) y *M. chelonae* (30; 1,9%). Las restantes especies aisladas fueron: *M. terrae* (0,32%), *M. marinum* (0,3%), *M. mucogenicum* (0,2%), y *M. falax*, *M. goodii*, *M. insubricum*, *M. lentiflavum*, *M. nebraskense*, *M. nonchromogenicum*, *M. peregrinum*, *M. scrofulaceum* y *M. szulgai* con un caso (0,06%), cada una de ellas. En el seno del complejo *M. tuberculosis* se diferenciaron cuatro especies: *M. tuberculosis*, 1.123/1.139 (98,6%); *M. bovis*, (7; 0,6%); *M. caprae* (5; 0,4%) y *M. africanum* tipo 1 (4; 0,3%). En el complejo *M. avium* se diferenciaron dos especies: *M. avium*, 58/86 (67,4%), y *M. intracellulare* (28; 32,6%).

Conclusiones: Los resultados obtenidos demuestran: 1ª.- Que en el área de influencia del Departamento de Salud 5 de la Comunidad Valencia las especies más prevalentes son *M. tuberculosis complex*, *M. kansasii* y *M. avium complex*; 2ª.- La utilidad de los métodos moleculares como herramientas

para la especiación, ya que han permitido la identificación de especies poco frecuentes del complejo *M. tuberculosis*, *M. africanum* tipo 1 y *M. caprae*, y de micobacterias atípicas de reciente descripción.

153

PREDICCIÓN DEL RIESGO DE INCUMPLIMIENTO TERAPÉUTICO DE LA TUBERCULOSIS EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DE REFERENCIA DE UNA ÁREA URBANA DE ALTA ENDEMIA

M. Haydee Amaro, F. Sánchez, G. Vallecillo, R. Güerri, A. Moreno, J.L. López Colomés, T. Carbonell y J.A. Caylà

Servicio de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas.

Servicio de Epidemiología. Hospital del Mar. Agencia de Salud Pública. Barcelona.

Introducción y objetivos: El tratamiento directamente observado (TDO) para la tuberculosis es una de las principales estrategias de la OMS para mejorar el control de la enfermedad, pero su aplicación depende de los recursos disponibles y, aunque es una medida de control prioritaria, no se utiliza de forma homogénea. Los objetivos del presente trabajo son: 1. Conocer los factores socio-culturales de riesgo (FSCR) para la falta de cumplimiento terapéutico entre los enfermos diagnosticados de tuberculosis (TB) en un hospital universitario en el que se declaran más de 100 casos al año. 2. Crear una herramienta diagnóstica que ayude a detectar pacientes con aquellos FSCR significativamente relacionados con el incumplimiento terapéutico para monitorizar la adherencia y conseguir la finalización satisfactoria del tratamiento.

Métodos: A partir del análisis prospectivo de 2766 casos de TB diagnosticados en el Hospital del Mar entre 1990 y 2006, se ha determinado una regla de predicción que estratifica los pacientes en tres grupos, atendiendo al riesgo de abandono del tratamiento (1 = riesgo bajo, 2 = riesgo moderado, 3 = riesgo elevado). La regla asigna puntos basados en la edad, la situación de inmigración reciente, la vida laboral activa y la existencia concomitante de FSCR (presencia de alguna condición de aislamiento o exclusión social como alcoholismo, uso de drogas, prisión, sin domicilio fijo-sin techo, entorno de familia desestructurada).

Resultados: No existen diferencias significativas en la conclusión del tratamiento dentro de cada uno de los grupos de riesgo identificados en el estudio. El porcentaje de abandones oscila entre el 1 y el 14% para los pacientes del grupo de riesgo 1 ($P = 0,22$), del 15 al 25% para los del grupo de riesgo 2 ($P = 0,67$) y es más del 25% para los del grupo de riesgo 3 ($P = 0,12$). Pertener al grupo 3 se asocia significativamente con recibir tratamiento directamente observado (TDO) en régimen de hospitalización ($OR = 4,54$; $CI 95\% = 2,87-8,23$).

Conclusiones: La regla de predicción que se describe en este trabajo identifica los pacientes con TB y alto riesgo de incumplimiento terapéutico y puede ser útil para el especialista a la hora de racionalizar los recursos del TDO en aquellas situaciones en que éste no pueda aplicarse de forma universal.

154

SENSIBILIDAD IN VITRO DE MICOBACTERIAS NO PIGMENTADAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO A TIGECICLINA Y OTROS 10 ANTIMICROBIANOS

R. Fernández-Roblas, N.Z. Martín de Hijas, A.I. Fernández, D. García-Almeida, I. Gadea y J. Esteban

Servicio de Microbiología. Fundación Jiménez Díaz.

Introducción: El tratamiento de las infecciones causadas por micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido incluye el empleo de diversos antimicrobianos diferentes de los

antituberculosos tradicionales. Sin embargo, la sensibilidad de las distintas especies (e incluso de las distintas cepas de la misma especie) es muy variable, por lo que es necesaria la realización de estudios de sensibilidad específicos para conocer los patrones de resistencia de estas MNPCR.

Objetivos: Estudiar la sensibilidad in vitro de tigeciclina y otros 10 antimicrobianos en aislamientos clínicos y cepas de colección de MNPCR.

Material y métodos: Se estudió la sensibilidad in vitro de los aislamientos de MNPCR mediante la técnica de microdilución en placa. Los antimicrobianos estudiados fueron tigeciclina (TGC), eritromicina (E), claritromicina (CLA), azitromicina (AZT), ciprofloxacino (CIP), levofloxacino (LEV), amicacina (AK), tobramicina (TB), cefoxitina (FOX), doxiciclina (DOX) y cotrimoxazol (SXT).

Resultados: Se estudiaron un total de 185 cepas de las siguientes especies: *M. abscessus* (10), *M. alvei* (3), *M. brumae* (1), *M. chelonae* (32), *M. elephantis* (1), *M. fortuitum* (91), *M. goodi* (1), *M. immunogenum* (1), *M. mageritense* (6), *M. mucogenicum* (7), *M. peregrinum* (23), *M. porcinum* (2), *M. seegalense* (1), *M. septicum* (2), *M. smegmatis* (3) y *M. wolinskii* (1). Los resultados (CMI_{90} en mg/L) de las cepas con mayor número de aislamientos ($N \geq 5$) se describen en la tabla:

Especie	TGC	E	CLA	AZT	CIP	LEV	AK	TB	FOX	DOX	SXT
<i>M. abscessus</i>	0,5	16	1	2	8	32	8	16	32	>64	>64
<i>M. chelonae</i>	0,5	>64	4	16	2	8	16	16	>64	64	32
<i>M. fortuitum</i>	0,25	>64	16	>64	0,12	0,25	2	32	32	64	1
<i>M. peregrinum</i>	0,06	16	2	64	0,06	0,25	1	8	16	32	1
<i>M. mucogenicum</i>	0,5	32	16	>64	4	8	8	8	32	34	64
<i>M. mageritense</i>	0,25	>64	16	16	0,25	1	>64	>64	32	16	8

Conclusiones: Tigeciclina presentó las CMIs más bajas en todas las especies estudiadas con un número significativo de cepas. Entre los macrólidos, claritromicina presentó las CMIs más bajas, así como ciprofloxacino entre las quinolonas. Destaca la presencia de 3 cepas resistentes a amicacina en *M. mageritense* (2) y *M. chelonae* (1), así como 2 cepas de sensibilidad intermedia (1 *M. fortuitum* y 1 *M. chelonae*). Cefoxitina y doxiciclina fueron poco activas in vitro, así como cotrimoxazol (excepto en *M. fortuitum* y *M. peregrinum*). *M. peregrinum* fue, globalmente, la especie más sensible.

155

EVALUACIÓN DE LA TÉCNICA DE E-TEST PARA EL ESTUDIO DE SENSIBILIDAD A TIGECICLINA EN MICOBACTERIAS NO PIGMENTADAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO

N.Z. Martín de Hijas, R. Fernández Roblas, A.I. Fernández, D. García-Almeida, I. Gadea y J. Esteban

Servicio de Microbiología, Fundación Jiménez Díaz.

Introducción: La sensibilidad de las distintas especies de micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido (MNPCR) es muy variable, por lo que es necesaria la realización de estudios de sensibilidad específicos para conocer los patrones de resistencia de estas MNPCR. Estos estudios son poco utilizados por su complejidad, habiéndose empleado como alternativa la técnica de E-test para otros antimicrobianos con resultados variables.

Objetivos: Estudiar la correlación entre la técnica de E-test y la técnica de referencia de microdilución en caldo para el estudio de la sensibilidad de MNPCR a tigeciclina.

Material y métodos: Se estudió la sensibilidad in vitro de los aislamientos de MNPCR mediante la técnica de microdilución en placa. El estudio de sensibilidad mediante E-test se realizó en placas de agar Müller-Hinton con 5% de sangre de carnero e incubación durante 3 días a 30°C, con un inóculo de 1 McFarland. Para el análisis de los datos se definió como concordancia la obtención de una CMI igual en las dos técnicas, error menor la obtención mediante E-test de una

CMI inferior a la obtenida por microdilución, y error mayor la obtención mediante E-test de una CMI superior a la obtenida por microdilución.

Resultados: Se estudiaron un total de 169 cepas de las siguientes especies: *M. abscessus* (10), *M. chelonae* (32), *M. fortuitum* (91), *M. mageritense* (6), *M. mucogenicum* (7), *M. peregrinum* (23). La correlación de resultados permitió establecer una concordancia en 61 cepas (12 *M. chelonae*, 34 *M. fortuitum*, 2 *M. mageritense*, 2 *M. mucogenicum* y 11 *M. peregrinum*), mientras que se detectaron 77 errores menores (4 *M. abscessus*, 13 *M. chelonae*, 45 *M. fortuitum*, 3 *M. mageritense*, 2 *M. mucogenicum* y 10 *M. peregrinum*) y 31 errores mayores (6 *M. abscessus*, 7 *M. chelonae*, 12 *M. fortuitum*, 1 *M. mageritense*, 3 *M. mucogenicum* y 2 *M. peregrinum*). Si se eliminan los errores de sólo una dilución, el número de errores mayores y menores disminuye a 13 y 50 respectivamente.

Conclusiones: Sólo se pudo objetivar una correlación entre los resultados obtenidos mediante las dos técnicas en el 36,1% de los casos, si bien en el 45,6% de los casos el error obtenido fue una CMI por E-test menor que la obtenida mediante la técnica de referencia (en 27 casos el error fue de sólo 1 dilución), y en 18,3% el error fue una CMI mayor (en 18 casos el error fue de sólo 1 dilución). La técnica de E-test no es una buena alternativa para el estudio preciso de la CMI en MNPCR.

156

TOXICIDAD DEL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN LATENTE TUBERCULOSA

L. Aníbarro¹, S. Casas², D. Sande¹, L. González², J. Paz³, M.R. Guerra², A. Pena¹, J. Dorca⁴ y M. Santín²

¹Unidad de Tuberculosis, Servicio de Medicina Interna, Complejo Hospitalario de Pontevedra, Pontevedra. ²Unidad de Tuberculosis, Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona.

³Unidad de Tuberculosis, Medicina Preventiva, Complejo Hospitalario de Pontevedra, Pontevedra. ⁴Unidad de Tuberculosis, Servicio Neumología⁴, Hospital Universitari de Bellvitge, Barcelona.

Objetivos: Determinar las características de la toxicidad del tratamiento de la infección latente tuberculosa (TIT), evaluar su seguridad y analizar factores de riesgo que obligan a su interrupción.

Material y métodos: Estudio observacional, ambispectivo de pacientes que inician TIT en la Unidad de TB de dos hospitales españoles de enero 2004 a marzo 2007. Se realizaron controles clínicos y analíticos basales, al primer mes y cada 2-3 meses. Se constató la presencia de síntomas sugestivos de hepatotoxicidad. Las variables analizadas como posibles predictores de interrupción del TIT por toxicidad fueron la edad, sexo, alcoholismo, diabetes, desnutrición, tratamiento con otros fármacos potencialmente hepatotóxicos, serología VHB/VHC, valor basal de transaminasas, episodio previo de TIT y tipo de tratamiento indicado.

Resultados: Se incluyeron inicialmente 669 episodios de 645 pacientes que iniciaron TIT. Se excluyeron para el estudio los pacientes que abandonaron voluntariamente el tratamiento ($n = 87$), suspensión de isoniacida por resistencia del caso índice ($n = 3$), trasladados a otra área ($n = 3$) y muerte sin relación con el TIT ($n = 1$). Se analizaron finalmente 575 episodios en 554 pacientes. La media de edad fue 41 años (58% mayores de 35 años), el 52% eran mujeres. El valor basal de transaminasas estaba alterado en 77 pacientes (14%). La pauta más indicada fue isoniacida 6-9 meses (91%). 176 pacientes (31%) presentaron algún efecto secundario en el primer mes, de ellos 131 por alteración en niveles de transaminasas. 63 episodios (11,0%) presentaron toxicidad que obligó a la suspensión definitiva ($n = 29$) o al cambio en la pauta ($n = 34$). La interrupción del TIT fue antes del segundo mes en el 81%. La hepatitis fue la causa más frecuente de indicación de interrupción (76%), seguida de intolerancia digestiva (9%) y cefalea (3%). Sólo el 27% de los pacientes en los que se suspendió el tratamiento por hepatotoxicidad

referían síntomas. El 82% de pacientes que suspendieron el tratamiento por hepatitis tóxica presentaban alteración de transaminasas en los dos primeros meses. El análisis multivariante identificó como factores de riesgo de interrupción del TIT por toxicidad la edad (OR 1,03 por año de edad, IC95% 1,01-1,04) y diabetes (OR 6,45 IC95% 1,22-34,06).

Conclusiones: Se debe considerar la realización de controles de transaminasas en todo paciente que inicia TIT, especialmente en los primeros meses de tratamiento, pacientes de edad avanzada y diabéticos.

157

TUBERCULOSIS MULTIRRESISTENTE: IMPACTO DE LA INMIGRACIÓN EN LOS DIAGNÓSTICOS DE ENFERMEDAD TUBERCULOSA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE FUENLABRADA, DEL ÁREA SUR DE MADRID

N. Cabello, J.V. San Martín, J.M. Ruiz-Giardín, A. Barrios, E. Canalejo, J. Hinojosa y A. Zapatero

Medicina Interna, Hospital Universitario de Fuenlabrada. Madrid.

Introducción: La tuberculosis (Tb) ha aumentado en algunas zonas de España a partir del 2005 y nuestras tasas triplican las de la Unión Europea. Entre las causas que provocan esta situación epidemiológica ocupa un lugar destacado el incremento de casos de tuberculosis en población inmigrante en relación con el cambio demográfico y la llegada masiva de inmigrantes a España desde el año 2000. Según datos del Registro Regional de Casos de la Comunidad de Madrid (CAM), la tasa de incidencia de Tb en extranjeros ha sido de 42,8 casos por 100.000 habitantes en el año 2004. Del total de casos, 345 (35,1%) se dieron en personas nacidas fuera de España. Lo más destacable del informe es la tendencia de casos de origen no español que continúa siendo significativamente creciente. La definición de Tuberculosis multirresistente (MDRTB) es una cepa de *M. Tuberculosis* resistente in vitro a isoniacida y rifampicina y Tb con multiresistencia ampliada (XDRTB) si además es resistente a quinolona y a 1 o más drogas antituberculosas inyectables (OMS oct 2006). De 982 casos de Tb registrados en el 2004 en la CAM, sólo en 362 (36,9%) se dispone de resultados del estudio de sensibilidad ante los tuberculostáticos, detectándose resistencia a isoniacida en 50 casos (68,5%) en 17 casos (23,3%) a rifampicina, en 9 (12,3%) a etambutol y en 23 casos (31,5%) a estreptomicina. Se ha comunicado resistencia al menos a isoniacida y rifampicina en 15 casos (4,1%). Diversos grupos de trabajo y Sociedades Científicas recomiendan buscar tuberculosis en inmigrantes cuando contactan por primera vez con el sistema sanitario, fomentar el tratamiento directamente observado (TDO) y mejorar la vigilancia epidemiológica tanto de la infección por VIH como de la Tb. Decidimos hacer un seguimiento prospectivo de todos los casos de Tuberculosis diagnosticados en nuestro hospital desde el momento de su apertura, incluyendo estudio de sensibilidades de nuestras cepas de micobacterias, dado que se ha detectado Tb con resistencia a fármacos en todos las zonas en que se ha estudiado y por tratarse de un problema clínico y epidemiológico emergente a nivel mundial. Es consecuencia de un mal tratamiento de la enfermedad tuberculosa, con responsabilidad atribuible, por tanto, al Sistema Sanitario. **Objetivos concretos:** 1. Evaluación de la incidencia y prevalencia de la enfermedad tuberculosa en población inmigrante y descripción de las características clínico-epidemiológicas de los nuevos diagnósticos de tuberculosis en nuestro medio. 2. Estudiar la prevalencia de resistencias a tuberculostáticos en los nuevos diagnósticos de tuberculosis en inmigrantes y en población general y las implicaciones que se derivan en cuanto a los fármacos de elección. 3. Identificar problemas en el manejo de la tuberculosis en la población inmigrante con especial atención a: 3.1. Diferencias en cuanto a las formas de presentación clínica, 3.2. Adherencia al tratamiento, que pueda condicionar mayor generación de resistencias, 3.3 Consumo de recursos (ingreso hospitalario), tra-

tamiento directamente observado etc), 3.4 barreras culturales específicas y aspectos socioeconómicos

Hipótesis: La población inmigrante está aumentando de forma muy importante en los últimos años en toda España y en concreto en Madrid y en nuestra área sanitaria, lo que podría incidir en el aumento de nuevos diagnósticos de enfermedad tuberculosa y sobre todo en el aumento de prevalencia de casos con resistencias primarias y secundarias al tratamiento tuberculostático, con las implicaciones correspondientes en Salud Pública. Las características clínico-epidemiológicas de la enfermedad tuberculosa en esta población, así como los problemas específicos de manejo de estos pacientes no está bien definido, lo que añade dificultades para afrontar el problema desde el punto de vista de la prevención y el tratamiento

Diseño: Se trata de un estudio de cohortes prospectivo en el que los sujetos de estudio son los pacientes diagnosticados de tuberculosis que han nacido fuera de España. Los resultados obtenidos en estos pacientes se comparan con pacientes con diagnóstico de tuberculosis y españoles.

Ámbito del estudio: El estudio se ha realizado entre los pacientes diagnosticados de Tb en el Hospital Universitario de Fuenlabrada. El periodo de reclutamiento es el comprendido entre Junio del 2004 y Diciembre del 2007 y el periodo de seguimiento es de al menos un año desde el diagnóstico.

Sujetos del estudio: todos los pacientes diagnosticados de Tb desde la apertura del Hospital de Fuenlabrada (junio 2004) hasta la fecha de cierre del periodo reclutamiento (diciembre del 2007) ingresados o en seguimiento en las consultas de Medicina Interna, Neumología u otras del hospital que no sean españoles. Se registraron simultáneamente los casos en pacientes españoles, lo que permite realizar comparaciones con esta población

Ánalisis estadístico: Datos en formato ACCESS para la recogida de todas las variables. El análisis se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 13 para Windows

Resultados: El número total de casos incluidos en el estudio hasta la fecha es de 135 (n = 135). La edad media de los casos es de 40,68 años (rango de 1 a 86), la mayoría varones (72,7%), casi la mitad extranjeros (47,7%). Por país de origen, 36% subsaharianos, 26% Europa del Este 17% Magreb, 17% latinoamericanos, 4% otros. La localización de la Tb fue pulmonar en el 72,7% de los casos, bacilíferos 52,7% y con infección VIH de base 9,1%. Comparando ambos grupos, presentaban diferencias significativas respecto a la edad (más jóvenes los extranjeros, $p > 0,05$) con tendencia a mayor porcentaje de resistencia a fármacos en extranjeros (5 casos vs 1 caso $p = 0,01$) y en VIH positivos. El 4,4% de los casos de Tb tenían resistencia al menos a 1 fármaco de primera línea, aumentando la incidencia del 2005 (6,6% de los casos) al 2007 (12,7%). El porcentaje de multirresistencia global ha sido del 2,9%

Conclusiones: Nuestros casos de Tb son: 1. Varones jóvenes, con amplio rango de edad (pediatría a geriatría). 2. Alto porcentaje de inmigrantes (casi 50%) sobre todo de África Subsahariana y Europa del este (Rumanía). 3. Localización fundamentalmente pulmonar, bacilíferos 50%. 4. Porcentaje considerable de resistencias, que se concentran en VIH e inmigrantes 5. Todos nuestros pacientes con Tb resistente se han incluido en tdo. 6. Se ha realizado estudio de resistencias al 100% de las cepas de micobacterias.

158

ABORDAJE BIOLÓGICO, PSICOLÓGICO Y SOCIAL EN COLECTIVOS VULNERABLES CON TUBERCULOSIS

M.T. Peñafiel¹, M.L. Sanchez¹, M.R. Jiménez¹, S. Vallejo², M.J. Jiménez¹, INDAL TB

Equipo de Tuberculosis del Distrito de Atención Primaria Poniente de Almería- Unidad de Medicina Tropical H. Poniente¹, Centro de Salud Santa María del Águila. Unidad de Investigación², Distrito Poniente Almería.

Introducción: El control de la TB en el poniente almeriense, zona de invernaderos con elevada incidencia de la TB en

inmigrantes frecuentemente en situación de precariedad (idioma, infravivienda, ilegalidad, dispersión..), requiere la intervención integral con un equipo (UTB) interdisciplinario específico (médico, DUE y asistente social). Se realiza una estrategia bio-psico-social, individualizando cada caso. Uno de sus objetivos es el control de la adherencia del tratamiento.

Objetivos: *I)* Describir las cargas de trabajo que suponen para la UTB, las actuaciones mas frecuentes de este programa integral. *II)* Conocer el efecto de esta intervención sobre la TB del inmigrante en el Poniente almeriense valorando el resultado del seguimiento y el grado de satisfacción del usuario.

Material y métodos: Muestra: 83 pacientes (inmigrantes 61 (73,49%), hacinamiento 31(37,3%), barrera idiomática 37/61 (60,6%)) atendidos por la UTB durante el año 2006. Fuente de información: historia clínica de UTB. Variables de carga de trabajo: *i)* tiempo dedicado a la preparación del tratamiento individualizado, *ii)* lugar de supervisión (domicilio, centro sanitario), *iii)* nro. visitas por enfermo, *iv)* dispersión de la vivienda, *v)* casos que requieren intervención de mediador-interpretante, *vi)* coordinación y aplicación del programa personalizado, *vii)* recaptación de casos tras desplazamientos o trasladados. Hospitalización durante supervisión. Variables de efecto de la intervención: *i)* resultado del seguimiento, *ii)* satisfacción usuario, *iii)* opinión del Equipo UTB sobre el grado de adherencia al tratamiento.

Resultados: *Objetivo 1:* El tiempo medio de tratamiento individualizado fue de 315 minutos/paciente. El 90,3% (73) de los pacientes tuvieron un seguimiento domiciliario, recibiendo una media de 21 visitas por caso y requiriendo la participación de mediadores al menos 20 enfermos. Coordinamos los trasladados con el destino en 31 casos y se recapturaron a los 15 (100%) que regresaron durante el tratamiento. El 12% (10 casos) fueron hospitalizados durante la supervisión del tratamiento. *Objetivo 2:* completaron el tratamiento 62/67 (92,5%) pacientes, abandonaron 3 (4,5%) y fallecieron 2 (3%). De los que completaron el tratamiento, la satisfacción manifestada por el usuario fue buena en 98% y en opinión del Equipo UTB, el 97% de ellos con buena adherencia al tratamiento.

Conclusión: La supervisión individualizada de un tratamiento complejo en una población vulnerable ha facilitado el cumplimiento del tratamiento, con un grado de satisfacción aceptable por parte del paciente y de la UTB.

Agradecimientos: FIS (030986, 060882, 061467, 0690490, 0690357), J. Andalucía (05151, 06453).

159

REVISIÓN DEL ESTUDIO DE CONTACTOS DE LAS TUBERCULOSIS (TBC) EN LA PROVINCIA DE GIRONA EN UN PERÍODO DE 7 AÑOS

J. Cucurull¹, S. Vega¹, N. Follia², M. Sabaté², N. Camps², Z. González de Valle¹ y Grupo de Estudio de la Tuberculosis en Girona (GETGI)³

¹Servicio de Medicina Interna, Hospital de Figueres. Fundació Salut Empordà. ²Sección de Epidemiología, Serveis Territorials de Salut a Girona. Hospital Sant Jaume (Olot), Parc Sanitari Martí Julià (Salt), Hospital Comarcal de la Selva (Blanes), Hospital Dr Josep Trueta (Girona), Hospital de Campdevànol

Introducción: El estudio de los contactos de los pacientes diagnosticados de TBC es una actuación fundamental para la detección de focos de enfermedad, de nuevos enfermos y para la instauración de quimioprofilaxis (QP) para reducir las tasas de incidencia en el futuro.

Objetivo: Analizar los estudios de contactos realizados un periodo de 7 años.

Pacientes y método: Revisión de los informes anuales desde el año 2000 al 2006, elaborados a partir de los formularios estandarizados de estudio y seguimiento de los contactos de los casos de TBC declarados en la provincia de Girona.

Resultados: Se estudiaron 4566 contactos (6,3 por caso) de 729 TBCs (85,7%), en los casos de pacientes bacilíferos el 89% el año 2001, 95% o superior los años 2002, 2003 y 2005 y el 100% los años 2000, 2004 y 2006. Los contactos procedían del entorno familiar 2588 (56,7%) laboral 1065 (23,3%), escolar 527 (11,5%), lúdico 303 (6,6%) y otros 83 (1,8%). Se consideró convivencia de alta intimidad (G I) en 1121 (24,65), media intimidad (G II) 1728 (37,8%) y baja intimidad o esporádicos (G III-IV) 1708 (37,4%), no constaba e 9 casos. Se detectaron 38 con enfermedad activa (0,8%). No infectados y no candidatos a QP 2744 (60,1%) presentaron viraje 120 (4,4%) no acudieron para realizar el segundo PPD 466. Se instauró QP primaria en 388 (8,5%) la completaron 279 (71,9%), presentaron viraje 36 (9,3%) y se perdió el seguimiento de 77 (19,8%). Se prescribió QP secundaria en 784 (17,2%), completaron el seguimiento 562 (71,7%) y se perdieron 217 (27,7%). Registramos 36 (4,3%) casos de hepatotoxicidad en los 841 pacientes que acudieron a las visitas de seguimiento. De las pérdidas de seguimiento 396 (15,3%) correspondían al entorno familiar, 243 (22,8%) al laboral, 36 (6,8%) al escolar, 62 (20,5%) al lúdico y 23 (27,7%) a otros. Según el grado de convivencia G I 178 (15,9%), G II 292 (16,9%) y G III-IV 283 (16,6%) (porcentajes referidos al total de cada entorno i cada grado de convivencia en particular). Del total de las pérdidas (617, excluido el año 2000) 561 (90,9%) correspondían a casos con baciloscopia i/o Lowenstein positivos. 133 (26%) correspondían a inmigrantes (de un total de 511, excluidos los años 2000 y 2001).

Conclusiones: 1) El porcentaje de casos en el que se estudian contactos es alto pero debemos mejorar el seguimiento para reducir el número de pérdidas. 2) Se estudian prácticamente todos los casos bacilíferos. 3) Hemos hallado casi un 10% de virajes en los casos a los que se prescribió QP primaria. 4) Los entornos con menor porcentaje de pérdidas de seguimiento son el escolar y el familiar. 5) No existen diferencias en el porcentaje de pérdidas de seguimiento entre los diferentes grados de convivencia. 6) La incidencia de hepatotoxicidad es baja (< 5%).

160

EVALUACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL PROGRAMA DE CONTROL EXTERNO DE CALIDAD SEIMC PARA EL DIAGNÓSTICO DE MICOBACTERIAS

R. Guna¹, N. Orta¹, M. Ovies¹, JL. Pérez^{1,3}, C. Gimeno^{1,2}

Servicio de Microbiología^{2,3}. Departamento de Microbiología².

Programa de Control Externo de Calidad SEIMC¹. Hospital

Clínico Universitario y Facultad de Medicina de Valencia².

Hospital Son Dureta de Palma de Mallorca³

Objetivo: Evaluar los resultados obtenidos por el Programa de Control Externo de Calidad SEIMC (CCS) en la identificación de micobacterias.

Material y métodos: Durante los años 1998-2006 se realizaron dos envíos anuales (media, 90 centros) y se compararon los resultados de los participantes con los de referencia. Se remitieron diferentes micobacterias: *M. tuberculosis* (MB-1/98, MB-2/02 y MB-2/06), *M. kansasii* (MB-1/99), *M. avium* (MB-2/99), *M. fortuitum* (MB-1/00), *M. smegmatis* (MB-2/00), *M. gordonae* (MB-1/01), *M. chelonae* (MB-2/01), *M. thermoresistibile* (MB-1/02), *M. kansasii* grupo I (MB-1/03), *M. bovis* (MB-2/03), *M. gastri* (MB-1/04), *M. intracellulare* (MB-2/04), *M. smegmatis* (MB-1/05), *M. kansasii* genotipo VI (MB-2/05), *M. chelonae* (MB-1/06).

Resultados: La participación media fue del 77,2%. El porcentaje de acierto en la identificación varió según la especie estudiada: en los 3 controles en que se remitió *M. tuberculosis*, el porcentaje de centros que identifican la especie desciende de un 62,3% en los dos primeros a un 50,6% en el último, siendo mayor en éste el porcentaje de centros que aportan la identificación de *M. tuberculosis* (complejo) por el uso mayoritario de sondas de ácidos nucleicos (SAN). En esta línea, en el envío 2/03 (*M. bovis*) sólo el 18,9% de los centros

alcanza la identificación de especie, mientras que un 48,6% lo informaron como *M. tuberculosis* (complejo), utilizando SAN. En los controles en que se remitió una cepa de *M. kansasii*, el porcentaje de acierto ascendió de un 79,6% a un 88,1% y 87,9%, respectivamente, mejorando la capacidad de los participantes para llegar incluso a identificar el genotipo; en el control en que se envió una especie feno y genotípicamente similar (*M. gastri*), el porcentaje de acierto fue sólo del 47,9%. Con las cepas pertenecientes al complejo *M. avium*, el porcentaje de centros que llegó a un diagnóstico de especie ascendió del 35,7% a un 54,1%. Cuando se remitieron cepas poco habituales en la práctica clínica, los porcentajes de acierto fueron más bajos [*M. thermoresistibile* (27,6%), *M. smegmatis* (38,1%)], porcentaje que se eleva al 57,1% mediante hibridación. En el caso de *M. fortuitum*, *M. chelonae* y *M. gordonae*, los porcentajes oscilaron entre un 70% y 80%, empleándose en los dos primeros casos, técnicas moleculares junto con pruebas bioquímicas.

Conclusiones: Hay factores externos a las características de la cepa y a la capacidad del laboratorio para la identificación de las micobacterias. Constatamos una asociación entre el método diagnóstico empleado y el nivel de identificación de la cepa: los centros que obtienen una identificación más precisa emplean métodos moleculares, sólos o asociados a pruebas bioquímicas convencionales.

161

ENFERMEDAD PULMONAR ASOCIADA A MICOBACTERIAS ATÍPICAS

V. Pérez¹, M. Román², o. Navarro³, A. Vergara¹, E. Cruz¹ e I. Jesús de la Calle²

¹Medicina Interna, ²Microbiología y parasitología y ³Medicina Familiar y Comunitaria, Hospital Universitario Puerto Real.

Objetivos: En los últimos años se ha observado un aumento en la incidencia de infecciones causadas por las micobacterias atípicas. El objetivo de nuestro estudio es describir la epidemiología de las micobacterias atípicas aisladas en 38 casos en medio hospitalario entre los años 1999-2007 en el Hospital Universitario Puerto Real.

Método: Realizamos un estudio descriptivo retrospectivo mediante revisión de historias clínicas de 38 pacientes que presentaron muestras positivas para micobacterias atípicas en el Laboratorio de Microbiología de nuestro hospital. Parámetros utilizados: tipo de micobacteria, edad del paciente en el momento del aislamiento, estado inmunológico del paciente, origen de la muestra, patología presentada por el paciente en el momento del aislamiento, tratamiento realizado, tiempo y evolución del mismo, así como la necesidad de reingresos posteriores debidos a esta causa.

Resultados: Se han aislado 38 muestras: esputo (36), aspirado bronquial (1) y drenaje quirúrgico de tumoración submaxilar (1). Con respecto a los microorganismos identificados se aisló *M. scrofulaceum* en la tumoración maxilar y *M. abscessus* en el broncoaspirado. En las muestras de esputo se aislan 11 casos de *M. avium*, 5 de *M. fortuitum*, 4 de *M. gordonae* y 4 de *M. chelonae*. En cuanto al lugar de aislamiento, 18 muestras lo fueron en medio hospitalario, 2 en recintos carcelarios y el resto en consultas. Respecto a las manifestaciones clínicas el 65% de los pacientes manifestó clínica respiratoria. En lo referente al tratamiento destacar que las micobacterias fueron tratadas en 13 casos de los cuales 7 fueron *M. avium*. 12 casos tenían clínica respiratoria y sólo uno carecía de ésta. El tratamiento consistió en 6 casos de terapia antituberculosa, los otros 7 casos fueron tratados con etambutol asociado a claritromicina y rifabutina. El tiempo de tratamiento varió de 6 a 9 meses, siendo la evolución buena en la mayoría. En 5 casos los pacientes fallecieron siendo la causa atribuible a *M. avium* en 3 de ellas. En lo referente a la inmunocompetencia 17 pacientes eran VIH estadio C3 y dos de ellos se encontraban inmunodeprimidos por corticoterapia.

Conclusiones: El 65% de los pacientes de nuestro hospital desarrollaron algún tipo de manifestación respiratoria cuando padecen infección por micobacterias atípicas de escasa importancia clínica a excepción de la clínica por *M. avium* y *M. abscessus*. Los aislamientos son tardios y dificultan el manejo clínico por lo que el clínico se plantea el inicio de tratamiento antituberculoso sin conocer el agente causal. *M. avium* produce elevada mortalidad asociada a gravedad y con independencia de tratamiento correcto. Las micobacterias afectan fundamentalmente a pacientes inmunocomprometidos y en ellos es mayor la letalidad.

162

BROTE DE INFECCIÓN EN PIEL Y TEJIDOS BLANDOS POR *MYCOBACTERIUM FORTUITUM* TRAS TRATAMIENTO CON MESOTERAPIA

E. Ugalde¹, P. García-Morrás², J. March³, M. Perucha⁴ y J.A. Oteo⁵

¹Sección de Microbiología, Hospital San Pedro. Logroño.

²Servicio de Dermatología, Hospital San Pedro. Logroño.

³Laboratorio de Micobacterias, Hospital Carlos III. Madrid.

⁴Servicio de Epidemiología⁴, Gobierno de la Rioja. Área GC de Enfermedades Infecciosas⁵, Hospital San Pedro. Logroño.

Introducción: La mesoterapia es una técnica, utilizada fundamentalmente con fines cosméticos que consiste en inyectar sustancias que provocan lipólisis por vía intradérmica.

Objetivo: Describimos una serie de pacientes con infección en piel y tejidos blandos por *M. fortuitum* secundarios a la mesoterapia en un centro de estética de la CA de La Rioja.

Material y métodos: Entre Septiembre de 2007 y Enero de 2008 se estudiaron 30 pacientes con infección en piel y tejidos blandos que acudieron al Servicio de Dermatología del Hospital San Pedro de Logroño por presentar lesiones nodulares en las zonas de inyección, algunas de ellas ulceradas y supurativas tras recibir tratamiento con mesoterapia. A todos los pacientes se les tomaron muestras de las lesiones mediante biopsia que se enviaron al Laboratorio de Microbiología para estudio microbiológico. El cultivo se realizó en medios habituales y medios específicos para micobacterias. El cultivo de micobacterias se realizó en Löwenstein-Jensen (BioMérieux) y medio líquido MGIT 960 (Becton Dickinson). Inicialmente, para descartar que se trataba de *M. tuberculosis* se realizó una hibridación con sondas de DNA (AccuProbe, BioMérieux). La identificación de las cepas se llevó a cabo tras amplificación de la región 23SrADN e hibridación en fase sólida (Genotype "Mycobacterium", Hain Diagnóstica). Se testó la sensibilidad por el método E-test (AB Biodisk) a los siguientes antibióticos: ciprofloxacino, claritromicina, imipenem, trimetropim-sulfametoazol, cefoxitina, amikacina y tobramicina.

Resultados: De los 30 pacientes evaluados, todas eran mujeres con edades comprendidas entre 22 y 61 años, cuyos síntomas se iniciaron entre 4 y 20 semanas después de la aplicación de la mesoterapia. Durante ese período se recibieron un total de 30 biopsias cutáneas, cuyo cultivo en MGIT 960 fue positivo a los 7 días en 12 de ellas. A partir de los cultivos detectados como positivos, se realizó la tinción de auramina y un pase en agar chocolate para descartar que se trataba de una contaminación. Se vieron BA-AR, y además, a las 48 horas se observó el crecimiento de unas colonias en agar chocolate, lo que dio lugar a pensar que se trataba de una micobacteria de crecimiento rápido. La identificación definitiva resultó ser *M. fortuitum*. Para la interpretación de la sensibilidad, se aplicaron los criterios de la CLSI, siendo las cepas sensibles a ciprofloxacino, claritromicina, imipenem, cefoxitina y amikacina y resistentes a trimetropim-sulfametoazol y tobramicina. A todos los pacientes se les pautó levofloxacino (500 mg/24 h)

y claritromicina (500 mg/12 h) por vía oral, con evolución desfavorable precoz en 2 pacientes, a los que se ha añadido al tratamiento amikacina (15 mg/kg). En el momento de escribir el abstract estamos pendientes de ver la evolución.

Conclusiones: Se describe un gran brote de infección cutánea y de partes blandas tras mesoterapia por *M. fortuitum*. En pacientes con antecedentes de mesoterapia que desarrollen tardíamente lesiones en piel y tejidos blandos se debe sospechar la posible infección por micobacterias no tuberculosas de crecimiento rápido.

163

CA-125: UN MARCADOR ÚTIL DE TUBERCULOSIS EN RELACIÓN A OTRAS INFECCIONES PULMONARES

J. Fortún¹, P. Martín-Dávila¹, R. Méndez¹, A. Martínez¹, F. Norman¹, J. Rubí², E. Pallares², E. Gómez-Mampaso³ Y S. Moreno⁴

¹Servicios de Enfermedades Infecciosas¹, Bioquímica² y Microbiología³, Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Introducción: Ca-125 es un marcador tumoral, cuyos niveles se incrementan en determinados tumores pero también en otras circunstancias como la tuberculosis pulmonar y extrapulmonar.

Métodos: Desde enero-04 hasta diciembre-06 se determinaron de forma prospectiva los niveles séricos de Ca-125 en todos los pacientes con diagnóstico de tuberculosis pulmonar ingresados en nuestra unidad de aislamiento y se compararon con los niveles de Ca-125 obtenidos en pacientes ingresados en la misma unidad durante el mismo período y con sospecha clínica de infección respiratoria pero con un diagnóstico final diferente a tuberculosis pulmonar. En ambos grupos se excluyeron los pacientes con patología neoplásica. Las determinaciones de Ca-125 se llevaron a cabo mediante electro-quimo-luminiscencia (Elecsys 1010, Roche). El punto de corte óptimo de sensibilidad y especificidad se estimó mediante curvas ROC (Receiver operating characteristic curves).

Resultados: Se analizaron un total de 89 pacientes: 35 con tuberculosis pulmonar (casos) y 54 con otros diagnósticos de infección respiratoria (controles). Los diagnósticos en el grupo control correspondieron a: neumonía adquirida en la comunidad (37 pac), infección del tracto respiratorio superior (8 pac), neumonía nosocomial (4 pac), neumonía intersticial (3 pac), empiema (1 pac) y pleuropéricarditis (1 pac). En los pacientes con tuberculosis, la media de Ca-125 fue $104,9 \pm 136,1$ (mediana: 46; rango: 10-500). En el grupo control, el valor medio de Ca-125 fue $27,1 \pm 19,7$ (mediana: 24; rango: 5-123). El análisis mediante curvas ROC confirmó una relación entre el valor de Ca-125 y diagnóstico de tuberculosis pulmonar, con un área de 0,77 (IC95%: 0,66-0,87). El punto de corte óptimo fue de 32,5 UI/ml, alcanzándose para este punto una sensibilidad y especificidad de 68,6% y 77,8%, respectivamente. El análisis multivariante confirmó el diagnóstico de tuberculosis pulmonar como el único factor asociado a niveles séricos elevados de Ca-125 (OR: 5,9 [IC95%: 2,0-16,7]). En 10 pacientes con tuberculosis pulmonar se estimó una segunda determinación de Ca-125 al menos 2 meses desde el inicio del tratamiento anti-tuberculoso. La media de Ca-125 en estos casos fue: $59,5 \pm 88,5$ (mediana: 31; rango: 13-63).

Conclusiones: Los valores séricos de Ca-125 están elevados en pacientes con tuberculosis pulmonar y se reducen con el tratamiento anti-tuberculoso. En pacientes con infección respiratoria e infiltrado pulmonar un valor de Ca-125 en suero $> 32,5$ UI/ml sugiere una etiología tuberculosa y puede ser especial de utilidad en pacientes con baciloskopias de esputo negativas.

164

REVISIÓN DE LAS TUBERCULOSIS (TBC) EN AUTÓCTONOS Y EN INMIGRANTES EN LA PROVINCIA DE GIRONA EN UN PERÍODO DE 7 AÑOS

J. Cucurull¹, S. Vega¹, N. Follia², M. Sabaté², N. Camps², Z. Gonzalez del Valle¹ y Grupo de Estudio de la Tuberculosis en Girona (GETGI)³

¹Servicio de Medicina Interna, Hospital de Figueres. Fundació Salut Empordà. ²Sección de Epidemiología, Serveis territorials de Salut de Girona, Hospital Sant Jaume (Olot), Parc Sanitari Martí Julià (Salt), Hospital de Palamós, Hospital Comarcal de la Selva (Blanes), Hospital Dr Josep Trueta (Girona). ³Servicio de Medicina Interna Hospital de Campdevànol.

Introducción: La incidencia de TBC parecía que estaba disminuyendo lentamente desde la aparición del TARGA y el mejor control de los pacientes seropositivos. La llegada de un gran número de inmigrantes (IM) procedentes de países con mayores índices de prevalencia puede variar esta tendencia.

Objetivo: Analizar los casos de TBC en un periodo de 7 años, en autóctonos y en IM recientes (< 5 años de estancia en nuestro país).

Pacientes y método: Revisión de los informes anuales desde el año 2000 al 2006, elaborados a partir del seguimiento de los casos de TBC declarados.

Resultados: Hemos revisado 852 TBCs, 569 H y 283 M, con unas tasas de incidencia anuales del 2000 al 2006 de 23,36, 22,42, 21,22, 20,5, 19,98, 23,35 y 22,64. La localización pulmonar (P) y/o pleural (PL) fueron en conjunto las más frecuentes 551 P (64,7%), 77 PL (9%), 20 P/PL (2,3%), 267 (46,8%) bacilíferas; seguidas de la Ganglionar 87 (10,2%), Genitourinaria 34 (4%), Miliar 24 (2,8%), Osteoarticular 17 (2%) Meníngea 13 (1,5%) y 25 (3%) de Otras localizaciones. Radiológicamente presentaban alteraciones en la placa de tórax 621 (72,9%), 173 (27,8%) cavitadas. Hubieron 554 (65%) cultivos positivos, 283 con baciloscopia también positiva, se detectaron resistencias en 43 casos (8% de los cultivos positivos). La mayoría de tratamientos instaurados fueron de 6 meses, 621 (72,9%), 405 con 3 fármacos y 216 con 4 fármacos. Se curaron 729 (85,6%), fallecieron 61 (7,2%), 10 a causa de la TBC (16,4% de los éxitos). Se perdió el seguimiento en 28 (3,3%) pacientes, 17 de ellos IM (60,7% de las pérdidas). 202 TBC correspondían a IM, 161 IM recientes (79,7%) de 7 el año 2000 a 35 el año 2005, procedentes de Marruecos 43, África subsahariana 44, América Latina 38, Asia 19, Europa del Este 18 y Europa occidental 3. Las localizaciones eran similares a las de los autóctonos. 56 TBC correspondían a paciente VIH, 44 en el periodo 2000-2003 i 12 entre 2004 y 2006, con mayores porcentajes de miliar (18%) y ganglionar (16%).

Conclusiones: 1) Las tasas de incidencia que tenían tendencia a disminuir, se han incrementado en los 2 últimos años. 2) Los casos de TBC en IM se ha ido incrementando progresivamente. 3) La localización pulmonar i/o pleural es la más frecuente. 4) Las pautas de tratamiento de 6 meses son las más usadas. 5) En los pacientes VIH el porcentaje de localizaciones extrapulmonares es más alto.

165

ESTUDIO IN VITRO SOBRE LA PENETRACIÓN DE AMICACINA, CLARITROMICINA Y CIPROFLOXACINO EN BIOFILMS DE *MYCOBACTERIUM ABSCESSUS*

N.Z. Martín de Hijas*, I. Gadea*, A. Celdrán**, D. García-Almeida*, R. Fernández-Roblas*, A. Bodas*** y J. Esteban*

Departamento de Microbiología Clínica* y Departamento de Cirugía**. Fundación Jiménez Díaz. Laboratorio Fundación Jiménez Díaz Unilabs***

Introducción: Podríamos considerar que el desarrollo de biofilms es un mecanismo de resistencia antimicrobiana en

la mayoría de bacterias. Dicha resistencia podría deberse a la dificultad del antibiótico para atravesar el biofilm.

Objetivos: Analizar la penetración de los antibióticos amicacina, claritromicina y ciprofloxacino en biofilms maduros de *Mycobacterium abscessus*, tanto clínicos como de colección.

Material y métodos: La penetración antibiótica se estudió mediante la técnica de Anderl et al. Se emplearon discos de amicacina (30 µg), claritromicina (15 µg) y ciprofloxacino (15 µg). Se generó el biofilm en discos de policarbonato incubando a 37°C durante 7 días. Se midieron los diámetros de inhibición a tiempo cero y a las 3, 6 y 24 horas utilizando la cepa *Kocuria rhizophila* ATCC 9341. Se emplearon como controles discos sobre poliestireno sin biofilm (control positivo) y discos sobre parafilm (control negativo). El porcentaje de antibiótico que atraviesa el biofilm se calcula de restar el antibiótico que persiste en el disco del que se encuentra presente en el control negativo. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Resultados: Se estudiaron tanto 4 aislamientos clínicos como la cepa tipo *Mycobacterium abscessus* DSM 44196. El porcentaje de antibiótico que penetra en el biofilm, obtenido de la media de los resultados a las 24 horas fue de 45,86% para amicacina; de 25,29% para claritromicina; y de 7,12% para ciprofloxacino. Los porcentajes obtenidos de los controles sin biofilm a las 24 horas fueron de 63,35% en el caso de amicacina; de 25,83% para claritromicina, y de 21,27% para ciprofloxacino.

Conclusiones: No todos los antibióticos son capaces de atravesar el biofilm de *M. abscessus*. La claritromicina atraviesa el biofilm de manera similar al control, mientras que amicacina y ciprofloxacino (éste en mayor grado) ven bloqueado su paso de forma variable.

166

DETECCIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A MACRÓLIDOS Y CORRELACIÓN CON LA RESISTENCIA FENOTÍPICA EN MICOBACTERIAS NO PIGMENTADAS DE CRECIMIENTO RÁPIDO

N.Z. Martín de Hijas¹, D. García-Almeida¹, A. Bodas²,

R. Fernández-Roblas¹, I. Gadea¹, J. Esteban¹, Grupo de Estudio de Micobacterias de Madrid³

¹Servicio de Microbiología, ²Fundación Jiménez Díaz. ³Servicio de Microbiología, ²Laboratorios Fundación Jiménez Díaz-Unilabs. ³Grupo de Estudio de Micobacterias de Madrid: Juana Cacho (Hospital de Getafe), Raquel Cías (Hospital Clínico San Carlos), Rosa Daza (Hospital Puerta de Hierro), Diego Domingo (Hospital de la Princesa), Julio García (Hospital la Paz), Enrique Gómez Mampaso (Hospital Ramón y Cajal), Elia Palenque (Hospital 12 de Octubre), María Jesús Ruiz Serrano (Hospital Gregorio Marañón).

Introducción: Muchas cepas de micobacterias no pigmentadas de crecimiento rápido (MNPCR) causantes de infección son fenotípicamente resistentes a macrólidos. Entre los mecanismos más frecuentemente descritos como causa de esta resistencia figuran metilasas codificadas por diversos genes erm.

Objetivos: Detectar la presencia de genes erm, codificados de metilasas en aislamientos clínicos y cepas de colección de MNPCR, y correlacionar su presencia con la aparición de resistencia fenotípica a macrólidos.

Material y métodos: Se estudió la sensibilidad in vitro de los aislamientos de MNPCR a eritromicina (E), claritromicina (C) y azitromicina (A) mediante la técnica de microdilución en placa. La detección de la presencia de genes erm se realizó mediante PCR empleando los primers de consenso CME-1 y CME-2 descritos por K. Nash. Se incluyeron como controles las cepas tipo de las especies identificadas.

Resultados: Se estudiaron un total de 167 aislamientos clínicos de las siguientes especies: *Mycobacterium abscessus* (9), *Mycobacterium alvei* (2), *Mycobacterium cheloneae*

(30), *Mycobacterium fortuitum* (89), *Mycobacterium mageritense* (5), *Mycobacterium mucogenicum* (7), *Mycobacterium peregrinum* (23), *Mycobacterium porcinum* (1), y *Mycobacterium septicum* (1). 109 cepas fueron positivas para los genes erm (65,3%). Los resultados (CMI₉₀ en mg/L) de las cepas con mayor número de aislamientos (N ≥ 5) se describen en la tabla:

Especie	CMI ₉₀ E erm +	CMI ₉₀ C erm +	CMI ₉₀ A erm +	CMI ₉₀ E erm -	CMI ₉₀ C erm -	CMI ₉₀ A erm -
<i>M. abscessus</i>	> 64	32	15	2	≤ 0,03	2
<i>M. chelonae</i>	> 64	32	> 64	2	0,12	1
<i>M. fortuitum</i>	> 64	16	> 64	> 64	8	64
<i>M. mageritense</i>	> 64	8	16	—	—	—
<i>M. mucogenicum</i>	32	16	> 64	0,5	≤ 0,03	1
<i>M. peregrinum</i>	> 64	16	> 64	8	0,25	2

En las especies con mayor número de aislamientos, la CMI₉₀ de los macrólidos fue mayor en el grupo en el que se detectó la existencia de genes erm (excepto claritromicina en *M. fortuitum*). El 100% de cepas de *M. mageritense* fueron erm positivas, seguido de *M. fortuitum* (85,3%), *M. abscessus* (55,6%), *M. chelonae* (40%), *M. peregrinum* (34,8%) y *M. mucogenicum* (14,3%).

Conclusiones: Existen porcentajes variables de cepas sensibles a macrólidos y poseedoras de genes erm, así como cepas resistentes a macrólidos no poseedoras de dichos genes.

167

QUANTIFERON-TB-GOLD -TEST® EN LA PRÁCTICA CLÍNICA EN ENFERMOS CON TUBERCULOSIS ACTIVA

M. García-Gasalla¹, M.V. Fernandez-Baca², A. Campins³, M.C. Cifuentes¹, I. Mir⁴, A. Payera¹, J. Murillas³, A. Pareja⁵, C. Morey¹ y M.C. Gallegos²

¹S. de Medicina Interna, Hospital Son Llátzer, Palma de Mallorca. ²S. de Microbiología, Hospital Son Llátzer, Palma de Mallorca. ³S. de Medicina Interna, Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca. ⁴S. de Neumología, Hospital Son Llátzer, Palma de Mallorca. ⁵S de Epidemiología, Hospital Son Llátzer, Palma de Mallorca.

Introducción/Objetivos: el test de detección de IFN-gamma Quantiferon-TB-GoldTest® (QFG) es prometedor en el diagnóstico de infección tuberculosa y podría llegar a sustituir al PPD. Se estudia el valor del QFG y la concordancia QFG /PPD en enfermos de tuberculosis activa (TBC)

Material y métodos: se determina QFG en pacientes con TBC, en los hospitales de Son Llátzer y Son Dureta de Palma de Mallorca.

Resultados: Se incluyeron 50 pacientes de edad media 37 años (DE: 15,6), 32 varones. 22 eran autóctonos (44%), originarios de África 12 (24%), Centro-Sud América 9 (18%), Este de Europa 6 (12%), Pakistán 1 (2%). La mediana de días de síntomas fue 26 (rango 1-270). La localización fue pulmonar en 32, pleural en 8, miliar en 3, ganglionar en 2, extrapulmonar única en 6. El diagnóstico se hizo por baciloscopía y/o cultivo de M.tuberculosis en 70%, ADA en 20% y anatomía patológica en 10%. La RX tórax mostró alteraciones en 45 (10 con cavitación, 2 miliar). El PPD fue positivo en 38, negativo en 5 y no se realizó en 7. QFG fue positivo en 38, negativo en 7 e indeterminado en 5.

Se analizaron los 38 casos con QFG positivo: la media de edad fue 32,4 años (DE: 11,1). QFG fue positivo en 24/32 TBC pulmonares (incluidas las 10 formas cavitadas), 6/8 pleurales y 7/8 extrapulmonares únicas, incluyendo ganglionar.

Los 7 pacientes con QFG negativo tenían una edad media de 46,7 años (DE: 18,2). Cuatro tenían TBC pulmonar, dos diseminada, uno extrapulmonar única.

De los 5 pacientes con QFG indeterminado, la edad media fue 58,2 años (DE: 20,3). Cuatro tuvieron TBC pulmonar y uno pleural.

La edad fue significativamente inferior en los pacientes con QFG positivo respecto a los que lo tuvieron negativo (p = 0,007). No existían diferencias significativas en la positividad o negatividad de QFG en otros parámetros. 43 pacientes tenían ambos test realizados: 35 casos con QFG positivo tenían PPD positivo, uno tuvo QFG positivo y PPD negativo; cinco con QFG negativo tuvieron PPD positivo en 3 casos, negativo en 2; de los tres pacientes con QFG indeterminado solo uno tuvo PPD positivo. El índice de concordancia kappa entre PPD y QFG fue moderado 0,45 (p = 0,003).

Conclusiones: QFG en la enfermedad tuberculosa podría tener una sensibilidad similar al PPD, con una concordancia kappa moderada (0,45) entre ambos. La edad de los pacientes fue significativamente menor cuando QFG fue positivo. Son necesarios más estudios para determinar la aplicabilidad de QFG en nuestro medio.

168

QUANTIFERON-TB-GOLD TEST® (QFG) Y PPD EN EL ESTUDIO DE CONTACTOS DE ENFERMOS DE TUBERCULOSIS

M. García-Gasalla¹, M.V. Fernandez-Baca², M.C. Cifuentes¹, I. Mir³, A. Payera⁴, A. Ortí¹ y M.C. Gallego²

¹S. de Medicina Interna, ²S. de Microbiología, ³S. de Neumología, ⁴U de Epidemiología, Hospital Son Llátzer. Palma de Mallorca.

Introducción: Los test in vitro basados en la detección de IFN-Gamma como el Quantiferon-TB-Gold -Test® (QFG) ofrecen resultados prometedores en el diagnóstico de infección tuberculosa y podrían llegar a sustituir al PPD. Existen todavía pocos estudios en España sobre su utilización en la práctica clínica.

Objetivos: Determinar la concordancia entre Quantiferon-TB-Gold Test® (QFG) y el PPD en el estudio de contactos de pacientes con tuberculosis activa y valoración de la utilidad de la determinación de QFG en nuestro medio.

Material y métodos: Se estudian convivientes adultos de enfermos de tuberculosis activa en el Hospital Son Llátzer de Palma de Mallorca en 2007. El estudio incluye: PPD, RX tórax, análisis y determinación de QFG previa obtención de consentimiento informado. Se compara la proporción de positivos y negativos del PPD y del QFG utilizando el test de Mc Nemar, y la correlación utilizando el coeficiente Kappa.

Resultados: Se incluyeron 88 convivientes de pacientes con tuberculosis activa, 39 grado 1, 49 grado 2. La media de edad fue de 39,4 años (DE: 16,2). 24 (27,3%) tenían historia de vacunación por BCG, 29 (33%) lo desconocían y 35 (39,7%) sabían que no habían sido vacunados. 58% eran autóctonos, 42% extranjeros.

Globalmente, el test de Mantoux produjo significativamente más positivos 56/88 (63,6%) frente al QFG que fue positivo en 27/88 (30,7%) p < 0,05, con un índice de correlación kappa de 0,38 entre los dos test (p = 0,000)

Considerando los pacientes vacunados, el PPD produjo significativamente más positivos, 18/24 (75%) comparado con el QFG, 6/24 (25%), (p < 0,05). La correlación entre ambos test fue peor en este grupo, kappa: 0,2 (p = 0,1)

En lo que respecta a los no vacunados, el PPD también fue significativamente más veces positivo que el QFG, 16/35 frente a 9/35, pero la correlación entre ambos test fue mejor, kappa: 0,58 (p = 0,000)

Entre contactos vacunados y no vacunados no hubo diferencia significativa en el diámetro del PPD, 15,5 (DE: 4,1) frente a 14,3 mm (DE: 4,4) (p = 0,4)

Conclusiones: En este estudio se observa una pobre concordancia entre el test de Mantoux y el QFG, sobre todo en pacientes vacunados con BCG. El test de QFG puede tener una aplicación práctica en este último grupo al permitir

identificar mejor a los contactos candidatos a tratamiento de infección tuberculosa latente y evitar así tratamientos innecesarios relacionados con un test de Mantoux positivo en vacunados con BCG.

169

COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS DE DETECCIÓN GENÉTICA DE MICOBACTERIAS DIRECTAMENTE DE MUESTRAS RESPIRATORIAS

M.I. García-Arata¹, R. Jiménez^{1,2}, M. Alonso-Sanz¹, J. Jaqueti¹, J. García-Martínez¹ y S. Prieto¹

¹Servicio Análisis Clínicos - Microbiología, Hospital Fuenlabrada, Madrid; ²Servicio Microbiología, Hospital Severo Ochoa, Madrid.

Introducción: En la última década se han desarrollado diversos métodos para la detección genética de *M. tuberculosis* directamente en las muestras clínicas. El objetivo básico de estas técnicas es la detección de material genético específico de *M. tuberculosis*, permitiendo establecer el diagnóstico en 1 a 3 días en lugar de las 2 a 4 semanas del cultivo.

Muestras, pacientes y métodos: Se han analizado 88 muestras respiratorias (mayoritariamente esputos, BAS, y LBA) de 44 pacientes. Los métodos analizados fueron: tinción y cultivo, Amplicor® (Roche), Probetec® (Becton Dickinson) y Genotype® (Hain, Soria Melguizo). Amplicor® y Probetec®, detectan el complejo *M. tuberculosis*. La técnica de Genotype®, permite detectar además las del complejo *M. avium*-intracelular que tiene en nuestro centro una incidencia alta y con criterios diagnósticos de la ATS.

Resultados: Del total de muestras analizadas, se ha detectado crecimiento en 14 botellas y/o tubos con medio de cultivo pertenecientes a 10 pacientes: en 4 se identificó *M. tuberculosis* y en 6 pacientes *M. avium*. En dos pacientes (5 muestras), además se detectó mediante tinción (estos resultaron positivos un paciente para *M. tuberculosis* y el otro para *M. avium*). El resto de tinciones en el caso de cultivos positivos habían sido negativas. Los resultados obtenidos (para *M. tuberculosis*) con las técnicas moleculares comparadas se reflejan en la tabla.

N pacientes	N = 44	N = 44	N = 29
Técnica	Probetec®	Amplicor®	Genotype
Tinción BAAR positiva	1 (1)	1 (1)	1 (1)
Tinción BAAR negativa	0 (3)	0 (3)	1 (1)

Valores de resultados positivos para *M. tuberculosis* con las 3 técnicas comparadas (en paréntesis, positivos por cultivo).

Con el método de Genotype® se analizaron 60 muestras de 29 pacientes. De estas, en dos pacientes se detectó *M. tuberculosis* (de los dos pacientes en los que se había obtenido por cultivo, uno de ellos con tinción positiva, pero el otro, negativa) con lo que esta técnica ha resultado más sensible que las otras probadas. Además se detectó en un paciente con *M. avium* (con tinción y cultivo positivo) del total de los 4 positivos por cultivo (crecimiento de *M. avium*). Las muestras de los 3 pacientes con resultado negativo para Genotype®, fueron también negativas en la tinción BAAR, y se obtuvo crecimiento en sólo 4 del total de 9 muestras de esos 3 pacientes. Aunque el número probado aún es bajo para concluir, en nuestras manos este método es el que ha resultado más apropiado para las características de la población que atiende nuestro centro.

Conclusión: Un método de detección genotípica en la rutina del trabajo de micobacterias resulta de gran utilidad como complemento al diagnóstico y en un futuro poder adelantar este diagnóstico en 2 a 4 semanas.

170

CARACTERIZACIÓN DE RFLP-TIPOS DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* PREVALENTES EN POBLACIÓN INMIGRANTE DE MADRID CAPITAL

N. Alonso Rodríguez¹, F. Chaves², J. Iñigo³, M. Martínez Lirola⁴, M. Herranz¹, A. Arce³, EpiMOLTB Madrid, INDAL-TB, E. Bouza¹, D. García de Viedma¹

¹Servicio de Microbiología, Hospital Gregorio Marañón, Madrid; CIBER Enfermedades Respiratorias (CIBERES); ²Hospital Doce de Octubre, Madrid; ³Consejería de Sanidad, Madrid; ⁴Hospital Torrecárdenas, Almería.

Objetivos: 1) Identificación de los RFLP-tipos prevalentes en la población inmigrante de Madrid capital; 2) Rastreo de dichos RFLP-tipos en otras poblaciones; 3) Análisis de los aislados representantes de los genotipos prevalentes mediante una segunda técnica de genotipado (MIRU-VNTR).

Material y métodos: Se identificaron los RFLP-tipos prevalentes (clústeres de más de 3 casos) en una muestra compuesta por 633 aislados de MTB, procedentes de pacientes inmigrantes de Madrid capital durante el período 2004-2006. Se rastreó la existencia de estos genotipos en otras poblaciones: a) muestra de la población autóctona de Madrid (2004-2006; N: 475) y b) muestra poblacional de Almería (2003-2006; N: 393). Para el análisis mediante la técnica de MIRU-VNTR se utilizó el set de 15 loci (MIRU-15) (Supply et al 2006). El análisis de los genotipos se realizó con Bionumerics 4.6 (Applied Maths).

Resultados: Se identificaron 12 RFLP-tipos prevalentes en inmigrantes en Madrid (clústeres que agrupaban 4-23 representantes). 10 de ellos fueron compartidos por casos de diversas nacionalidades (2-7), 9 se identificaron asimismo en casos autóctonos de Madrid y 3 en casos de Almería. El RFLP-tipo más prevalente entre la población inmigrante de Madrid (cluster 28) también fue identificado en autóctonos (N: 5), siendo igualmente el RFLP-tipo más prevalente en Almería (N: 25). En 4 de los 12 clústeres mayoritarios definidos por RFLP, MIRU-15 identificó diferencias en 1-3 representantes (implicando a 1-5 loci). En las muestras de Madrid y Almería, MIRU-15 subdividió al cluster 28 en diferentes agrupaciones y MIRU-tipos únicos. En Almería se observó que esta subdivisión podía tener significado epidemiológico.

Conclusiones: Los genotipos prevalentes en población inmigrante en Madrid son compartidos frecuentemente por diversas nacionalidades. Asimismo, se identifican en casos autóctonos de Madrid y en la población de Almería.

Algunos clústeres prevalentes fueron subdivididos por MIRU-15, lo que ayudó a redefinir la investigación epidemiológica.

Financiación: FIS: 060882; 061467; 0690490; 0690357. REI-PI RD06/0008. CB06/06/0058. N.A.R es beneficiaria de un contrato del programa FPI concedido por la Comunidad de Madrid (Orden 7580/2003) y cofinanciado por el Fondo Social Europeo.

EpiMOLTB Madrid: Raquel Cías, Rosa Daza, Diego Domingo, Jaime Esteban, Julio García, Enrique Gómez Mampaso, Elia Palenque, María J. Ruiz Serrano. *INDAL-TB:* Teresa Cabezas, Isabel Cabeza, Armando Reyes, Waldo Sánchez-Yebra, Manuel Rodríguez, M. Isabel Sánchez, M. Cruz Rogado, Rosa Fernández, Teresa Peñaflor, Juan Martínez, Pilar Barroso, M. Ángeles Lucerna, L. Felipe Díez Carmelo Gutiérrez.

171

CARACTERIZACIÓN DE CEPAS BEIJING DE *M. TUBERCULOSIS* DESDE EL PUNTO DE VISTA GENOTÍPICO E INFECTIVO

M. Alonso¹, N. Alonso¹, M. Herranz¹, M. Martínez², E. Bouza¹, EpiMoTB Madrid³, INDAL-TB⁴, D. García de Viedma¹

¹Servicio de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid. CIBER Enfermedades Respiratorias CIBERES. ²Servicio de Microbiología, Complejo Hospitalario Torrecárdenas, Almería. ³EpiMoTB Madrid: F. Chaves, R. Cías, R. Daza, D. Domingo, J. Esteban, J. García, E. Gómez, J. Iñigo, E. Palenque y M. J. Ruiz Serrano. ⁴INDAL-TB: T. Cabezas, I. Cabeza, A. Reyes, W. Sánchez-Yebra, M. Rodríguez, M. I. Sánchez, M. C. Rogado, R. Fernández, T. Peñafiel, J. Martínez, P. Barroso, M. A. Lucerna, L. F. Díez, C. Gutiérrez.

Introducción: La familia Beijing de *M. tuberculosis* está distribuida por todo el mundo, con una mayor prevalencia en Europa del Este y sudeste asiático. En algunos contextos se encuentra asociada a multirresistencia y se considera que su alta representatividad está vinculada a una mayor virulencia y control de la respuesta inmune.

Objetivos: Realizar una caracterización genotípica completa de una colección de cepas Beijing de *M. tuberculosis* y analizar su infectividad in vitro.

Materiales y métodos: Se seleccionaron dos estudios poblacionales de epidemiología molecular en Madrid (1872 cepas; 2002-2007) y Almería (519 cepas; 2003-2007). Las técnicas/marcadores genotípicos aplicados fueron: spoligotip, RFLP-IS6110, MIRU-VNTR (set de 15 loci; Supply et al; 2006), pks15/1, RDs. La infectividad se evaluó en un modelo de infección in vitro con la línea THP-1. La capacidad infectiva se determinó cuantificando las CFUs y estimando la producción de citoquinas mediante ELISA.

Resultados: 26 cepas fueron identificadas como Beijing mediante spoligotipado (24 (1,28%) en Madrid y 2 en Almería (0,38%)). 23 de las cepas fueron pansensibles, 2 resistentes a INH y una multirresistente. 22 de los aislamientos correspondieron a casos inmigrantes (42% de Perú y Ecuador). Todas las cepas mostraron intacto el gen pks15/1 y RD105 delecionada. Se identificó un elevado número (21) de RFLPtipos diferentes (9-22 copias IS6110) y dos clusters de 4 (inmigrantes y autóctonos) y 3 casos (autóctonos). MIRU15 ofreció una menor capacidad discriminativa que RFLP-IS6110. Se seleccionaron siete cepas para el análisis de infectividad. El índice de crecimiento intracelular y producción de citoquinas agrupó a cinco de las cepas junto a la cepa de referencia H37Rv. Las otras dos cepas presentaron un mayor crecimiento ($p < 0,05$), una producción contenida de TNF- α y mayores niveles de IL-10.

Conclusiones: La presencia de cepas Beijing es reducida en las poblaciones analizadas y mayoritariamente no está asociada a resistencia. Un alto porcentaje de los casos corresponde a población inmigrante. MIRU15 ofrece menor capacidad de discriminación que RFLP-IS6110. La mayor parte de las cepas Beijing analizadas muestran un comportamiento infectivo equivalente al observado con la cepa control H37Rv.

Financiación: FIS: 060882; 061467; 0690490; 0690357. REI-PI RD06/0008. CB06/06/0058.

172

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE MICOBACTERIAS: CONSIDERACIONES EPIDEMIOLÓGICAS

B. Bermejo¹, I. Avalos¹, A. Antón¹, C. Balado², S. Esteban², P. Sardá³ y V. Mejías³

¹Unidad Virología y Microbiología Molecular, ²Unidad Microbiología Clínica, Laboratorio de Análisis Dr. Echevarne. Barcelona. ³Servicio Sanitario, Centro Penitenciario Quatre Camins.

Introducción y objetivo: Teniendo en cuenta el incremento de la circulación de mycobacterias en nuestro medio, fa-

vorecido por factores como la inmunodepresión y las migraciones, nos hemos propuesto analizar los aislamientos realizados en el periodo comprendido entre 2006-2008.

Materiales y métodos: Se recibieron 223 aislados en medios de cultivos selectivos para micobacterias tuberculosas y no-tuberculosas (Lowstein jensen y bact-alert), procedentes de pacientes con sintomatología sospechosa de micobacteriosis. Las cepas se agruparon en dos grupos epidemiológicamente definidos: *grupo A*: 172 cepas aisladas de pacientes procedentes de diferentes puntos geográficos. *grupo B*: 51 cepas aisladas de reclusos en estado de inmunodepresión de un centro penitenciario

La identificación se llevó a cabo mediante el método molecular INNOLIPA MYCOBACTERIA v2, siguiendo las indicaciones del proveedor y que es capaz de discriminar entre *M. Tuberculosis* (MTB) y 16 especies atípicas con importancia clínica.

Resultados: Especies de micobacterias más frecuentemente identificadas

	MTB	Gen Myc ⁽¹⁾	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. gordonae</i>	otras
Grupo A					
N = 172	64%	7%	8,7%	8,1%	12,2%
Grupo B					
N = 51	31%	40%	11,7%	9,8%	7,5%

⁽¹⁾ Gen MYC: cepas no-MTB no identificadas por INNOLIPA. Teniendo en cuenta las características del grupo B y ante la sospecha de circulación/colonización/infección de micobacterias ambientales, se ha procedido al tipado por secuenciación de la región espaciadora del rRNA 16S-23S del género *Mycobacterium* de todas las cepas gen Myc.

173

COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE GENOTIPADO DE *M. TUBERCULOSIS* RFLPIS6110 Y VNTR-MIRU COMO IDENTIFICADORES DE CADENAS DE TRANSMISIÓN EN UNA ÁREA EPIDEMIOLÓGICAMENTE COMPLEJA

M.J. Martínez¹, N. Alonso^{2(*)}, M. Herranz², M.T. Cabezas³, M.I. Cabeza³, W. Sánchez-Yebra¹, M.L. Sánchez⁴, M.A. Lucerna³, M. Bonillo⁵, J. Martínez⁶, D. García de Viedma², Grupo INDAL-TB

¹Microbiología, H. Torrecárdenas. ²Microbiología, H. Gregorio Marañón, CIBER Enfermedades Respiratorias-CIBERES.

³Medicina Preventiva, H. Poniente. ⁴Unidad de TB distrito Ponente, UTB Poniente. ⁵Área Gestión Sanitaria Levante,

Distrito Levante. ⁶Servicios Médicos, I. Penitenciaria "El Acebuche". (*) Beneficiaria contrato programa Comunidad de

Madrid (Orden 7580/2003) cofinanciado por Fondo Social Europeo.

Objetivos: 1) Describir los clústeres de transmisión reciente identificados por RFLPIS6110 y VNTR-MIRU 2) Conocer la concordancia entre ambos métodos.

Material y métodos: **Muestra:** Una cepa de *C. M. tuberculosis* (CMTB) por cada uno de los 314 casos de TB confirmados en Almería entre 01/2005 y 12/2007; muestra poblacional con alta proporción de extranjeros (184; 58,6%), de origen mayoritario africano (114(62%)). **Genotipado:** Mét. A: RFLP IS6110. Mét B: MIRU-VNTR-15. Cluster RFLP: casos cuyas cepas comparten idéntico genotipo. Cluster MIRU: se aplicaron dos criterios i) exigiendo identidad estricta de MIRUtipos (ID) y ii) tolerando variaciones mínimas en un solo locus (VSL). Caso huérfano: su cepa es un genotipo no compartido. Concordancias: si A y B consideran el caso en el mismo clúster o huérfano. Discordancias: si A agrupa en cluster y B considera huérfano o viceversa. **Pérdidas:** A: cepas no viables o patrones de < 6 bandas y no tipadas con A o B. **Estadísticos:** acuerdo (%), í. kappa y prob. condicional.

Resultados: Muestra válida 175 (56%). Anticipación en la obtención del genotipo por MIRU15: 37 días de media.

	Total casos en cluster	N.º de clústeres (rango tamaño)	Clústeres autóctonos uninacionales	Cl. extranj. multina- cionales	Cl. extranj. y extranj.	Cl. autóctonos	Concord. (I. kappa)
RFLP-IS610	75	29 (2-5)	9	9	5	6	81,7%
MIRU (ID)	62	25 (2-7)	10	10	2	3	(0,62)
RFLP-IS610	75	29 (2-5)	9	9	5	6	81,7%
MIRU (VSL)	73	25 (2-7)	9	9	3	4	(0,62)

Las probabilidades de permanecer en cluster por ambas técnicas (P (B/A)_c), contemplando los criterios de definición de cluster por MIRU15 planteados, fueron 0,73 (55/75) para ID y 0,77 (58/75) para VSL; por otra parte, las de permanecer con cepa huérfana (P(B/A)_h) fueron 0,88 (88/100) y 0,85 (85/100) respectivamente.

Conclusiones: 1. Se identifican diferencias en la asignación de clústeres entre ambas técnicas. El criterio de asignación estricto o tolerante de los clústeres definidos por MIRU15 no modifica la correlación con RFLP. 2. La técnica MIRU-15 muestra una tendencia a disagregar casos agrupados por RFLP. 3. A pesar de obtener una buena concordancia entre ambas técnicas se debe explorar el significado epidemiológico de las discrepancias RFLP/MIRU.

FIS (030986, 060882, 061467, 0690490, 0690357), J. Andalucía (05151, 06453), CIBERES (06060058).

yor parte de estos genotipos compartidos (9/10) se identificaron en casos que habían sido considerados huérfanos (no agrupados en cluster) en Madrid, mientras que el genotipo restante estaba implicado en un cluster que agrupaba 11 casos ecuatorianos.

Conclusiones: Un porcentaje importante de los casos ecuatorianos en Madrid participa en cadenas de transmisión reciente. Existe una elevada permeabilidad en la transmisión de la tuberculosis entre la población ecuatoriana y otras nacionalidades, incluida la española.

La comparación de genotipos circulantes en Ecuador con los aislados de los casos ecuatorianos en Madrid, facilitó la identificación i) de casos candidatos de haber importado la TB y ii) de una potencial importación de una cepa prevalente en Ecuador.

Financiación: FIS:060882;061467;0690490;0690357.MECP-CI2005-a7-0091.REIPIRD06/0008. CB06/06/0058. N.A.R es beneficiaria de un contrato del programa FPI concedido por Comunidad de Madrid (7580/2003) cofinanciado por Fondo Social Europeo.

174

ANÁLISIS DE LA TRANSMISIÓN RECENTE DE TUBERCULOSIS EN LOS CASOS ECUATORIANOS DE MADRID E IDENTIFICACIÓN DE CEPAS CANDIDATAS DE SER IMPORTADAS DESDE ECUADOR

N. Alonso Rodríguez¹, D. Kuffó², P. Araya³, V. Ritacco⁴, F. Chaves⁵, J. Iñigo⁶, M. Herranz¹, EpiMOLTB Madrid, Emilio Bouza¹ y Darío García de Viedma¹

EpiMOLTB Madrid: Raquel Cías, Rosa Daza, Diego Domingo, Jaime Esteban, Julio García, Enrique Gómez Mampaso, Elia Palenque, María Jesús Ruiz Serrano

¹Servicio de Microbiología, ¹Hospital Gregorio Marañón, Madrid; CIBER Enfermedades Respiratorias (CIBERES); ²INH Ecuador; ³ISP Chile; ⁴ANLIS Malbran / CONICET, B Aires Argentina; ⁵Hospital Doce de Octubre, Madrid; Consejería de Sanidad, Madrid.

Objetivos: Analizar molecularmente la transmisión reciente de la tuberculosis (TB) en pacientes inmigrantes ecuatorianos tras su llegada a Madrid, e identificar cepas candidatas de ser importadas desde Ecuador.

Material y métodos: Se genotiparon mediante IS6110-RFLP (RFLP) 633 cepas de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) aisladas de pacientes inmigrantes diagnosticados en 8 áreas sanitarias de Madrid y 475 cepas aisladas de pacientes autóctonos de 2 de estas áreas durante el período 2004-2006. Además, se genotipó una muestra de 88 cepas aisladas en 16 provincias diferentes de Ecuador en los años 2002 y 2006. En el análisis se estudiaron los casos ecuatorianos en Madrid: i) infectados por una cepa compartida con otro/s caso/s (clusters) en Madrid, candidatos de haber adquirido la TB por transmisión reciente tras su llegada a España y ii) infectados por cepas que fueran identificadas en Ecuador, candidatos de haber importado la TB desde su país de origen.

Resultados: El 22% (140/633) de los casos de TB en inmigrantes fueron ecuatorianos. De éstos, el 42,8% formaron parte de 33 clusters (2-18 representantes) que incluyeron 1-7 casos ecuatorianos. El 69,7% de los clusters fueron multinacionales (2-7 nacionalidades), de los cuales, el 73,9% incluyeron casos autóctonos.

En la muestra de cepas circulantes en Ecuador, se identificaron 66 RFLP-tipos diferentes, de los cuales 10 fueron también identificados en casos ecuatorianos de Madrid. La ma-