

## References

- Burk RD, Terai M, Gravitt PE, Brinton LA, Kurman RJ, Barnes WA, et al. Distribution of human papillomavirus type 16 and 18 variants in squamous cell carcinomas and adenocarcinomas of the cervix. *Cancer Res.* 2003;63:7215-30.
- Crum CP, Rivera MN. Vaccines for cervical cancer. *Cancer J.* 2003;9:368-76.
- Stevens MP, Rudland E, Garland SM, Tabrizi SN. Assessment of MagNA pure LC extraction system for detection of human papillomavirus (HPV) DNA in PreservCyt samples by the Roche AMPLICOR and LINEAR ARRAY HPV tests. *J Clin Microbiol.* 2006;44:2428-33.
- Van Ham MA, Bakkers JM, Harbers GK, Quint WG, Massuger LF, Melchers WJ. Comparison of two commercial assays for detection of human papillomavirus (HPV) in cervical scrape specimens: validation of the Roche AMPLICOR HPV test as a means to screen for HPV genotypes associated with a higher risk of cervical disorders. *J Clin Microbiol.* 2005;43:2662-7.
- Solomon D, Davey D, Kurman R, Moriarty A, O'Connor D, Prey M, et al. Forum Group Members; Bethesda 2001 Workshop. The 2001 Bethesda System: terminology for reporting results of cervical cytology. *JAMA.* 2002;287:2114-9.
- Molijn A, Kleter B, Quint W, Van Doorn LJ. Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections. *J Clin Virol.* 2005;32:S43-51.

***Kingella kingae: condiciones determinantes del crecimiento en botella de hemocultivo***

**Sr. Editor:** *Kingella kingae* es el microorganismo más frecuentemente implicado en infecciones osteoarticulares en pacientes de entre 6 meses y 2 años de edad<sup>1-3</sup>. La mayoría de aislamientos se realizan mediante el cultivo de muestras de líquido articular y pus o tejido óseo del foco de osteomielitis en botellas de hemocultivo, ya que los métodos convencionales de cultivo habitualmente son ineficaces<sup>4-6</sup>. El presente estudio analiza la capacidad de crecimiento de *K. kingae* según las características de la botella de hemocultivo, la concentración del microorganismo y la presencia de sangre como suplemento nutritivo. Hay que tener presente que al realizar un hemocultivo, la sangre del propio paciente proporciona elementos nutricionales complementarios al medio de cultivo, circunstancia que no se produce cuando utilizamos este tipo de botellas para el cultivo de otro tipo de muestras clínicas.

Se han estudiado 12 cepas de *K. kingae*. A partir de una suspensión en suero fisiológico 0.5 McFarland se realizaron diluciones sucesivas denominadas A, B, C, D, E, F, con una concentración bacteriana aproximada de  $10^8$ ,  $10^4$ ,  $10^3$ ,  $10^2$ , 10 y 1 unidades formadoras de colonias (ufc)/ml, respectivamente. Se realizaron controles de crecimiento/con-

TABLA 1. Número de cepas aisladas y rango de tiempo de detección de crecimiento para cada dilución

Tipo de cultivo	Diluciones	A	B	C	D	E	F
	Concentración inóculo*	-	****	-	644	72	8
SA + S	Nº de cepas**	12	12	12	12	12	5
	Tiempo***	9-11	13-17	17-24	19-28	21-32	24-38
SA	Nº de cepas	10	7	2	5	1	2
	Tiempo	17-122	26-110	33-58	34-142	67-	106-161
PF + S	Nº de cepas	12	11	9	9	7	2
	Tiempo	10-39	16-62	23-48	28-42	31-58	38-41
PF	Nº de cepas	10	9	4	4	1	1
	Tiempo	13-62	25-113	43-74	41-55	120-	38-

SA: Botella de hemocultivo standard (formato pacientes adultos).

PF: Botella de hemocultivo con carbón activado (formato pacientes pediátricos).

+S: Suplemento de sangre añadido.

\*Media de concentración del inóculo de cada dilución en ufc/0,4 ml, obtenida por siembra cuantitativa en placa de agar.

\*\*Número de cepas aisladas en cada inóculo.

\*\*\*Rango de tiempo, en horas, de detección de crecimiento en el sistema BacT/Alert.

\*\*\*\*Incontable.

centración de las diluciones y se inocularon 0,4 ml de cada una en dos botellas BacT/Alert SA y dos botellas BacT/Alert PF (con carbón activado). En una botella de cada tipo se añadió 1 ml de sangre humana estéril. Las botellas se incubaron en el procesador automático BacT/Alert (BioMérieux).

La tabla 1 resume la capacidad de aislamiento de las cuatro modalidades de cultivo.

De los dos tipos de botellas utilizadas en este estudio, *K. kingae* mostró mayor capacidad de crecimiento y necesitó menos tiempo de incubación en las botellas SA + S (con suplemento de sangre). De hecho, se obtuvo crecimiento en todas las botellas hasta la suspensión E, y en la dilución F se obtuvo crecimiento en cinco cepas, que correspondía con la probabilidad teórica de inocular alguna bacteria. Por tanto, la capacidad de aislamiento de *K. kingae* en estas condiciones fue del 100%. La secuencia de tiempo de detección mantenía constante relación con la concentración del inóculo bacteriano y el rango de tiempo de detección de crecimiento para cada suspensión era muy estrecho, demostrando una gran homogeneidad en el crecimiento de todas las cepas. En las botellas PF con suplemento de sangre (PF + S) decreció la capacidad de aislamiento bacteriano al disminuir la concentración del inóculo y aumentó el tiempo de incubación para detectar el crecimiento. En las botellas SA y PF (sin suplemento de sangre), disminuye de forma importante la capacidad de aislamiento; en algunas cepas no se obtuvo crecimiento en ninguna dilución. Además, se observó discontinuidad de crecimiento en la secuencia de diluciones de diversas cepas.

En pediatría, entre uno y dos tercios de los casos con diagnóstico clínico de artritis u osteomielitis no se consigue

aislar el microorganismo responsable<sup>7,8</sup>. La reciente aplicación clínica de una técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) específica<sup>1</sup> ha confirmado que, en los casos compatibles con el patrón habitual de la infección por *K. kingae*<sup>2,3</sup>, su implicación etiológica es superior a los casos confirmados por cultivo.

El escaso número de colonias obtenidas en los casos en que *K. kingae* se aisló a partir de siembra directa de la muestra en agar sangre<sup>9</sup>. La ineficacia de la tinción de Gram y las cuantificaciones realizadas directamente de muestras clínicas sugieren una baja concentración del microorganismo en el foco infeccioso<sup>3</sup>. Este dato es importante debido a que en nuestro estudio observamos que las diferencias más importantes en la capacidad de aislamiento se producían en inóculos con baja concentración bacteriana, y es en estas condiciones cuando la presencia de sangre y la ausencia de carbón activado es más determinante en el aislamiento del microorganismo. Por tanto, recomendamos la utilización de este método en botellas BacT/Alert SA<sup>10</sup>, aunque serían necesarios estudios realizados a partir de muestras clínicas para confirmar su utilidad práctica.

Amadeu Gené Giralt<sup>a</sup>,  
Edgar Palacín Camacho<sup>a</sup>,  
Montserrat Sierra Soler<sup>b</sup>  
y Ramon Huguet Carol<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Microbiología.

Hospital Sant Joan de Déu.

<sup>b</sup>Servicio de Microbiología.

Hospital de Barcelona (SCIAS).

<sup>c</sup>Servicio de Ortopedia y Traumatología.

Hospital Sant Joan de Déu.

Barcelona. España.

## Bibliografía

- Chometon S, Benit Y, Chaker M, Boisset S, Ploton C, Bérard J, et al. Specific real-time polymerase chain reaction places *Kingella*

- kingae* as the most common cause of osteoarticular infections in Young children. *Pediatr Infect Dis J.* 2007;26:377-81.
- Yagupsky P. *Kingella kingae*: from medical rarity to an emerging paediatric pathogen. *Lancet Infect Dis.* 2004;4:358-67.
  - Yagupsky P, Dagan R, Howard CB, Einhorn M, Kassis I, Simu A. Clinical features and epidemiology of invasive *Kingella kingae* infections in southern Israel. *Pediatrics.* 1993; 92:800-4.
  - Moylett EH, Rossmann SN, Epps HR, Demmeler GJ. Importance of *Kingella kingae* as a pediatric pathogen in the United States. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:263-5.
  - Yagupsky P, Bar-Ziv Y, Howard CB, Dagan R. Epidemiology, etiology, and clinical features of septic arthritis in children younger than 24 months. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 1995;149:537-40.
  - Abuamara S, Louis JS, Guyard MF, Barbier-Frebourg S, Tocques J, Lechevallier J, et al. Les infections ostéoarticulaires à *Kingella kingae* chez l'enfant. À propos d'une série récente de huit cas. *Arch Pediatr.* 2000;7:927-32.
  - Christiansen P, Frederiksen B, Glazowski J, Scavenius M, Knudsen FU. Epidemiologic, bacteriologic, and long-term follow-up data of children with acute hematogenous osteomyelitis and septic arthritis: a ten-year-review. *J Pediatr Orthop.* 1999;8:302-5.
  - Luhmann JD, Luhmann SJ. Etiology of septic arthritis in children: an update for the 1990s. *Pediatr Emerg Care.* 1999;15:40-2.
  - Gené A, García-García JJ, Sala P, Sierra M, Huguet R. Enhanced culture detection of *Kingella kingae*, a pathogen of increasing clinical importance in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J.* 2004;23:886-8.
  - Host B, Schumacher H, Prag J, Arpi M. Isolation of *Kingella kingae* from synovial fluids using four commercial blood culture bottles. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2000;19: 608-11.

### Concentraciones plasmáticas tras el cambio de amprenavir a fosamprenavir en pacientes infectados por el VIH en tratamiento antirretroviral con lopinavir/ritonavir

**Sr. Editor:** Fosamprenavir (FPV) es un profármaco que debe su actividad antiviral al paso a amprenavir (APV). Los pacientes que están en tra-

tamiento con APV pueden pasar a FPV sin modificación de su terapia antirretroviral, pero con una mayor comodidad de administración. Los pacientes en tratamiento concomitante de APV y lopinavir/ritonavir (LPV/r) plantean dudas en su paso a FPV, ya que se ha descrito una interacción que implica una disminución del 60-70% en los de APV y del 50-60% en las concentraciones de LPV<sup>1</sup>, aunque estos datos no están bien establecidos y hay información contradictoria al respecto. Esta interacción se había descrito con APV y LPV/r<sup>2</sup>, pero los estudios no eran uniformes<sup>1</sup> y esto no impidió que esta asociación se utilizara en pacientes mal controlados<sup>3-5</sup>. El objetivo de este estudio es valorar las concentraciones plasmáticas de APV y LPV en los pacientes VIH en tratamiento antirretroviral con un régimen con APV asociado a LPV/r antes y después del cambio a FPV.

Se incluyeron los pacientes con infección por el VIH-1 en tratamiento con APV asociado a LPV/r que cambiaron a FPV. Se determinaron concentraciones plasmáticas de APV y LPV antes del cambio y 14 días después<sup>6</sup>. La dosis equivalente establecida entre ambos fármacos es 700 mg de FPV y 600 mg de APV, pero debido a las presentaciones disponibles, los pacientes pasaron de 600 o 750 mg de APV dos veces al día (BID) a 700 mg de FPV BID. Cada paciente sirvió como su propio control. La concentración mínima de APV y LPV en pacientes con experiencia antirretroviral previa se estableció en 1,2 mg/l y 4,0 mg/l, respectivamente<sup>7</sup>. Los pacientes fueron informados del cambio de tratamiento y dieron su consentimiento al mismo.

Se incluyeron 7 pacientes, 5 hombres y 2 mujeres, con una edad media de 46 años (38-61); peso 77 kg (rango 63-86), ALT 27 UI/l (rango 17-45) y de creatinina sérica 0,78 mg/dl (rango 0,33-1,23). Otros antirretrovirales aso-

ciados fueron tenofovir, estavudina, lamivudina, didanosina y efavirenz. Efavirenz, que también presenta interacción con APV y con FPV, se estaba administrando sólo al paciente número 2, que no se ha valorado por presentar concentraciones indetectables de fármacos. Las concentraciones de antirretrovirales se muestran en la tabla 1. *Niveles de APV:* antes del cambio 3 pacientes mostraron concentraciones > 1,2 mg/l, y en 1 caso indetectables, lo que se atribuye a falta de adherencia. Después del cambio a FPV, las concentraciones de APV fueron > 1,2 mg/l en 5 pacientes. *Niveles de LPV:* antes del cambio en 3 casos fueron > 4,0 mg/l, y en un caso indetectables. Despues del cambio en 5 casos fueron superiores.

No se han establecido las dosis para el tratamiento combinado de FPV y LPV/r<sup>8</sup>. Debido a que se desconoce la importancia clínica de la interacción, y existe gran variabilidad interindividual, se ha aconsejado la monitorización de las concentraciones de APV y LPV en los pacientes en tratamiento con ambos fármacos<sup>4,9</sup>.

En nuestro caso, no se ha podido ver una diferencia en respuesta en los pacientes con distintas dosis de APV, por lo que no se han podido corroborar los datos publicados por Basso et al<sup>4</sup>. Otros autores proponen aumentar las dosis de ambos fármacos para conseguir niveles terapéuticos<sup>3</sup>. Estrategias como aumentar la dosis de ritonavir a 200 mg cada 12 h<sup>5</sup> o separar la administración de los fármacos 4 o 12 h no ha logrado resolver el problema<sup>10</sup>. Una limitación de este estudio es que no se ha valorado la variabilidad intraindividual a niveles de inhibidores de proteasa previos al cambio, así como el escaso número de pacientes descritos, aunque se considera importante su difusión por los escasos datos disponibles. Como conclusión, podemos establecer que el cambio de tratamiento de APV a FPV ha sido posi-

TABLA 1. Concentraciones plasmáticas de amprenavir y lopinavir antes y después del cambio de tratamiento de amprenavir a fosamprenavir asociados a lopinavir/ritonavir

Paciente	Dosis previa APV	Concentración inicial APV	Concentración posterior APV	Diferencia niveles APV		Dosis previa LPV/r	Concentración inicial LPV	Concentración posterior LPV	Diferencia niveles LPV						
	APV mg BID	APV + LPV/r C <sub>min</sub> APV mg/l	FPV + LPV/r C <sub>min</sub> APV mg/l	C <sub>min</sub> APV					APV + LPV/r C <sub>min</sub> LPV mg/l	FPV + LPV/r C <sub>min</sub> LPV mg/l	mg/l	%			
				mg/l	%										
1	750	3,05	2,71	-0,34	-11	400/100	1,66	6,54	4,88	294					
2	750	nd	1,78	1,78	-	400/100	nd	13,42	13,42	-					
3	750	0,83	1,23	0,40	48	400/100	8,45	7,23	-1,22	-14					
4	750	0,90	0,92	0,02	2	400/100	4,04	6,35	2,31	57					
5	600	1,07	1,33	0,26	24	400/100	3,01	2,78	-0,23	-8					
6	750	1,50	1,13	-0,37	-25	400/100	4,80	10,01	5,21	109					
7	600	1,47	2,17	0,70	48	400/100	0,50	0,73	0,23	46					

APV: amprenavir; FPV: fosamprenavir; LPV/r: lopinavir/ritonavir; C<sub>min</sub>: concentración mínima; nd: no detectable; BID: dos veces al día.